

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Madeleine GABRIEL

1^{re} THÈSE

Contribution à la Chimiotaxinomie des Agaricales Pigments des Bolets et des Cortinaires

2^{eme} THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 18 Octobre 1965 devant la Commission d'Examen : .

MM. KUHNER, Président
BOIDIN
LEBRETON } Examineurs

CONTRIBUTION A LA CHIMIOTAXINOMIE
DES AGARICALES
PIGMENTS DES BOLETS ET DES CORTINAIRES

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

DOYENS HONORAIRES

M. LONGCHAMBON, MOUSSA, GAUTHIER Henri.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. DE LARAMBERGUE, SOLLAUD, MENTZER, MOUSSA, JAFFARD,
EYRAUD Henri, DEJARDIN, VIRET

DOYEN

M. BRACONNIER

ASSESSEURS

MM. MESNARD, BOIDIN

PROFESSEURS

MM. LONGCHAMBON	Minéralogie
PRETTRE	Chimie industrielle
COURTY	Chimie-Physique
KUHNER	Botanique
MALECOT	Mécanique rationnelle et appliquée
PARIS	Chimie minérale
AUMERAS	Chimie générale II
COLONGE	Chimie organique
JANIN	Physique générale
FLANDRIN	Géologie appliquée
BERNARD	Physique industrielle
DUFAY Jean	Astronomie
NIGON	Zoologie expérimentale
GAUTHIER Henri	Géologie générale
WAUTIER	Zoologie
CHOPIN	Chimie biologique
CUEILLERON	Chimie
BRACONNIER	Calcul différentiel et intégral
EYRAUD Charles	Chimie-Physique appliquée
SARAZIN	Physique nucléaire
BOIDIN	Microbiologie et Mycologie
PERES	Physiologie
MESNARD	Electronique
GRANDMONTAGNE	Physique
BOUTILLER	Minéralogie
LAFOUCHIÈRE	Physique nucléaire théorique
DREUX	Chimie organique
TEICHNER	Chimie industrielle
PAVANS DE CECCATTY	Zoologie
MERLIN	Chimie analytique
DUFAY Maurice	Physique de l'Atmosphère
PHILBERT	Physique nucléaire
COHEN-ADAD	Chimie
DAVID Louis	Géologie générale
CHANEL	Psychophysiologie
MAURY	Méthodes Mathématiques de la Physique
DEPRAZ	Physique nucléaire
GAUTHIER Jean	Chimie
GAUME	Physique expérimentale

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. FERON	Mathématiques
LAFORGUE	Physique
LEGAY	Zoologie expérimentale S.P.C.N.
UZAN	Physique S.P.C.N.
CHENEVOY	Géologie appliquée
GINET	Zoologie
ASCH	Physique
MICHEL Pierre	Minéralogie
DUCET	Biologie végétale
M ^{lle} MAITROT	Physique
GEVIN	Géologie générale
PONASSE	Mathématiques
D'INCAN	Physique
LEFEBVRE	Mathématiques
PERNET	Mathématiques
CHERY	Physique
BERGEON	Physique C.S.U.
M ^{le} GAUTHERON	Chimie biologique
DESCOTES	Chimie organique
ERBEIA	Physique
M ^{me} ERICSON	Physique générale
LEMOIGNE	Botanique

MAITRES DE CONFERENCES

MM. MARTEL	Mécanique
MATHIEU	Mécanique des Fluides
PICARD Philippe	Mathématiques
DEMARCO	Géologie générale
MICHEL Georges	Biochimie
LEBRETON	Biologie végétale
DAVID Jean	Biologie animale
TOUSSET	Chimie propédeutique
FEUVRAIS	Physique Electricité
PICARD Claude	Mathématiques
SCHMITT	Physique M.P.C.
LAURENT	Chimie organique
ROT	Mathématiques
BETHOUX	Mathématiques T.M.P.
M ^{lle} CALAIS	Mathématiques C.S.U.
GUSAKOW	Physique
M ^{lle} THOMAS	Chimie minérale

MAITRE DE CONFERENCES ADJOINT

M. PIERRON (Chimie)

CONSEILLER ADMINISTRATIF

M. BURNET

SECRETAIRE PRINCIPAL HONORAIRE

M. ROUX



Digitized by the Internet Archive
in 2026

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Madeleine GABRIEL

1^{re} THÈSE

Contribution à la Chimiotaxinomie des Agaricales Pigments des Bolets et des Cortinaires

2^{eme} THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 18 Octobre 1965 devant la Commission d'Examen :

MM. KUHNER, Président

BODIN

LEBRETON

} Examinateurs



Nous n'avons pu entreprendre ce travail et le mener à bonne fin que grâce à des allocations que nous a accordées le Centre National de la Recherche Scientifique, d'abord comme stagiaire, puis comme attachée de recherches.

Nous avons effectué ces recherches au Laboratoire de Botanique générale où M. le Doyen R. DOUIN nous a accueillie, nous lui en gardons une profonde reconnaissance et nous regrettons vivement que sa disparition brutale ne lui ait pas permis de voir l'achèvement de cette étude.

Le sujet de notre travail nous a été inspiré par M. le Professeur R. KÜHNER, qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude pour nous avoir fait bénéficier de sa haute compétence. Grâce à lui, l'intérêt que nous portons à ce sujet n'a fait que croître. Il nous a toujours prodigué, avec bienveillance, tout au long de nos recherches, conseils et critiques. Nous lui exprimons nos bien sincères remerciements pour ses nombreuses déterminations d'espèces et pour l'obligeance avec laquelle il a mis à notre disposition ses notes inédites sur la microtopographie de la pigmentation.

Notre reconnaissance s'adresse également à M. P. LEBRETON, Maître de Conférences qui nous a fait profiter de sa grande expérience dans le domaine de la Chimie et dont les avis nous ont été fort utiles.

Nous remercions M. le Professeur J. BOIDIN d'avoir bien voulu nous faire l'honneur de participer à notre jury de thèse et de nous avoir donné, à maintes occasions, de judicieux conseils.

Grâce à l'obligeance de M. le Professeur J. LICHTENBERGER, nous avons pu disposer de divers échantillons chimiques, nous lui exprimons notre respectueuse gratitude.

Nous remercions vivement M^{lle} D. LAMOURE, Maître-assistant, qui s'est intéressée à nos recherches et nous a procuré différentes espèces.

Nous ne saurions oublier M. A. POUCHET, le regretté Président, ni M. M. JOSSERAND, de la Société Linéenne de Lyon, qui nous ont très aimablement déterminé et procuré certaines espèces.

Il nous est agréable de remercier tous nos collègues des Laboratoires de Botanique et de Microbiologie pour les multiples services qu'ils nous ont rendus et la cordialité qu'ils nous ont témoignée.

INTRODUCTION

Les champignons constituent un groupe végétal d'une extraordinaire richesse pigmentaire. Chez les champignons supérieurs, les pigments sont localisés essentiellement dans les carpophores et il existe une grande diversité de teintes d'une espèce à une autre et même souvent d'une partie à l'autre d'un carpophore, aussi la couleur a-t-elle toujours tenu une place importante parmi les caractères utilisés pour distinguer les espèces et les classer. Par exemple, ce sont en partie des différences de coloration du carpophore qui ont permis de reconnaître l'hétérogénéité des coupures *Stropharia*, *Hypholoma* et *Psilocybe* et d'en regrouper les représentants en deux genres beaucoup plus naturels : *Geophila* et *Drosophila*. Rappelons aussi le rôle joué par la couleur de la sporée dans le classique système des Agaricales élaboré par E. FRIES.

Les premiers auteurs se sont bornés à noter les couleurs, par la suite, l'aspect microscopique de la pigmentation a aussi été pris en considération. R. KÜHNER (1934) a mis en lumière d'importantes différences dans la topographie des pigments des carpophores des Agaricales, laissant prévoir des différences d'ordre chimique, et a montré l'intérêt systématique de telles observations.

En plus des données fournies par le simple examen de la couleur, les Mycologues ont de tout temps utilisé de multiples réactions chimiques pour aider à la caractérisation des espèces (BATAILLE, 1948 ; HENRY, 1943). Il ne fait pas de doute que plusieurs de ces réactions résultent de la transformation de substances colorées et qu'elles dépendent de leur nature chimique.

Il est certain que des recherches sur la structure des pigments seraient d'une bien plus grande utilité pour le systématicien, le critère pigmentaire prenant alors toute sa valeur. R. HEIM (1942), dans une remarquable conférence sur l'importance taxinomique des pigments des champignons, met à juste titre l'accent sur la fragilité d'un critère essentiellement subjectif s'il n'est pas étayé par une étude physico-chimique.

L'étude proprement chimique des pigments a été particulièrement développée chez quelques groupes de champignons imparfaits (*Helminthosporium* — Aspergillacées) et ses résultats sont venus confirmer et préciser les coupures génériques des systématiciens, il est loin d'en être de même pour les champignons supérieurs où les recherches chimiques, restées très fragmentaires, n'ont jamais été orientées vers un but taxinomique.

HISTORIQUE

Pour un historique détaillé sur les pigments des champignons, nous renvoyons le lecteur aux mises au point de PASTAC (1942), BONNET (1959) et HEGNAUER (1962).

Il sera simplement question ci-dessous des quelques pigments identifiés chez les Agaricales. Nous comprenons les Bolets dans cet ordre, mais nous en excluons les Chanterelles et ceci d'autant plus volontiers que plusieurs possèdent, à forte concentration, des pigments caroténoïdes, alors qu'aucun pigment de cette famille chimique n'a été signalé chez les Agaricales proprement dites.

ATROMENTINE : di (p. hydroxy-phényl)-2,5 dihydroxy-3,6 benzoquinone

isolé de *Paxillus atrotomentosus* par THÖRNER (1879).
formule élucidée par KÖGL et POSTOWSKY (1924 et 1925 b),
synthèse réalisée par KÖGL et BECKER (1928).

EMODINE : trihydroxy-4, 5, 7 méthyl-2 anthraquinone

isolée de *Cortinarius sanguineus* et formule élucidée par
KÖGL et POSTOWSKY (1925 a).

DERMOCYBINE : tétrahydroxy-4, 5, 7, 8 méthoxy-6 méthyl-2 anthraquinone,

ou tétra hydroxy-4, 5, 6, 8 méthoxy-7 méthyl-2 anthraquinone
isolée de *Cortinarius sanguineus*, formule globale donnée
par KÖGL et POSTOWSKY (1925 a), formule définitive et
synthèse par BIRKINSHAW et GOURLAY (1961).

MUSCARUFINE : hydroxy-6 (δ carboxy α γ butadiényl)-3 di (o. carboxyphényl)-2,5 benzoquinone

isolée de *Amanita muscaria*, formule élucidée par KÖGL
et ERXLEBEN (1930).

BOLETOL : trihydroxy-1, 2, 4 carboxy-5 ou 8 anthraquinone

isolé de plusieurs espèces de *Boletus* par G. BERTRAND
(1902), formule et synthèse par KÖGL et DEIJIS (1935).

LACTAROVIOLINE : formyl-1 méthyl-4 isopropényl-7 azulène

isolée de *Lactarius deliciosus* par WILLSTAEDT (1935-1936),
formule élucidée par PLATTNER et coll. (1954).

LACTARAZULENE : diméthyl-1-4 isopropényl-7 azulène
isolé de *Lactarius deliciosus* par WILLSTAEDT (1935-1936),
formule élucidée par BENESOVA et coll. (1954-1955).

VERDAZULENE : $C_{15}H_{16}$ formule développée non connue
isolé par WILLSTAEDT (1935-1936).

Il nous a paru commode de commencer nos recherches sur des groupes où la constitution chimique des pigments était connue pour certaines espèces, comme les Bolets et les Cortinaires. L'étude de ce dernier genre s'imposait particulièrement parce qu'il est, des genres d'Agaricales, le plus vaste et que ses espèces présentent une grande diversité de couleurs. De plus, le recours aux réactions colorées pour les déterminations y est fréquent, et enfin, selon R. KÜHNER, la microtopographie en est variée.

Dans ces deux genres nous avons trouvé surtout des pigments anthraquinoniques : anthraquinones ou anthranols, et nous avons identifié, dans un groupe de Cortinaires, un pigment xanthonique, type de pigments jusqu'alors seulement signalé chez les champignons inférieurs. Nous croyons utile, avant d'aborder l'exposé de nos recherches personnelles, de présenter une mise au point sur la chimie de ces pigments.

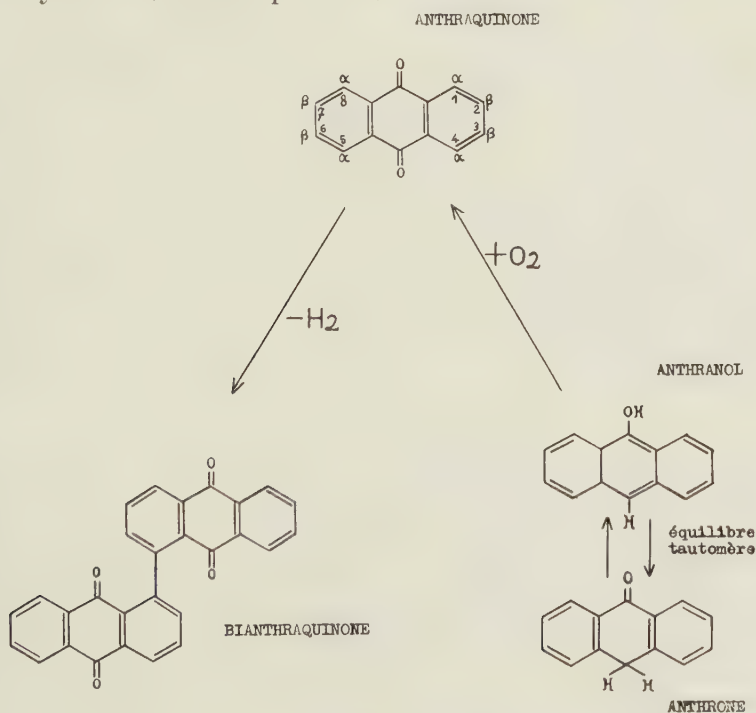
MISE AU POINT SUR LA CHIMIE DES ANTHRAQUINONES ET DES XANTHONES

1. ANTHRAQUINONES ET ANTHRANOLS.

Les travaux de Y. ASAHINA et S. SHIBATA (1954), B.-H. HOWARD et H. RAISTRICK, (1955) et R.-H. THOMSON (1957), nous ont été précieux pour établir cette mise au point.

1.1. FORMULAIRE.

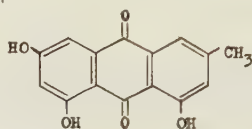
Nous pouvons placer à côté des anthraquinones deux groupes structuraux possédant le même squelette (anthracène) et dérivant des anthraquinones soit par réduction (anthranols-anthrone), soit par oxydation (bianthraquinones).



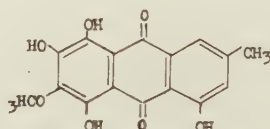
L'oxydation des anthranols en anthraquinones s'obtient aisément par action de l'eau oxygénée en milieu alcalin. En présence d'hydrosulfite de sodium, les bianthraquinones se scindent en anthraquinones.

Les substituants les plus fréquents du noyau des anthraquinones naturelles sont les groupes —OH . Ils peuvent occuper deux positions différentes par rapport au =CO quinonique : soit la position α (en 1, 4, 5 et 8), le —OH est alors voisin d'un =CO quinonique avec lequel il forme des ponts hydrogène, soit la position β (en 2, 3, 6 et 7). La couleur des anthraquinones, leur solubilité, leurs réactions colorées et leurs spectres sont évidemment influencés par le nombre de ces substituants, mais aussi par leur position, comme nous le verrons par la suite.

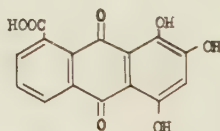
Les anthraquinones naturelles possèdent très souvent, en outre, des substituants —CH_3 , $\text{—CH}_2\text{OH}$, —COOH en nombre restreint et parfois, assez rarement, une chaîne carbonée plus ou moins longue. Ces substituants se trouvent le plus fréquemment en position β .



EMODINE



DERMOCYTINE



BOLETOLE

Signalons, à propos du bolétole, que la position du —COOH n'est pas connue de façon précise, il est soit en 5, soit en 8, l'un des cas est celui du bolétole, l'autre est celui d'un isobolétole obtenu par synthèse en même temps que le bolétole.

1.2. CARACTERES DE SOLUBILITE.

1.2.1. Polyhydroxanthraquinones.

Les anthraquinones n'ayant que des —OH en α se dissolvent dans la soude mais sont insolubles dans les carbonates et bicarbonates alcalins, tandis que les anthraquinones possédant des —OH en β , avec ou sans —OH en α , se dissolvent à la fois dans la soude et les carbonates. Ces différences de solubilité s'expliquent par la formation d'un cycle chélaté chez les α hydroxanthraquinones entre le =CO quinonique et le —OH en α , l'hydroxyle n'étant plus entièrement libre perd de sa réactivité par rapport au groupement —OH situé en β .

Il faut signaler la solubilité particulière dans les bicarbonates de certaines anthraquinones riches en hydroxyles situés en β , solubilité caractérisant habituellement les anthraquinones ayant une fonction —COOH .

Notons que la présence de trois hydroxyles sur un même cycle entraîne une instabilité de l'anthraquinone dans les solutions alcalines, la molécule est alors facilement oxydée avec scission du squelette anthracène (décoloration des solutions alcalines). Cette instabilité est encore plus grande lorsque les trois hydroxyles sont vicinaux.

1.2.2. Polyhydroxyanthranols-anthrone.

Ils sont plus ou moins solubles dans la soude.

1.2.3. Bianthraquinones.

A la différence des anthraquinones, elles sont toujours solubles dans les carbonates même quand elles ne possèdent que des hydroxyles en α et leur solubilité dans les bicarbonates semble être plus générale.

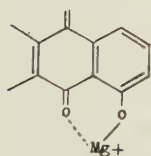
1.3. REACTIONS COLOREES.

De nombreux réactifs sont utilisés.

1.3.1. Réactifs des polyhydroxyanthraquinones.

1.3.1.1. Acétate de magnésium.

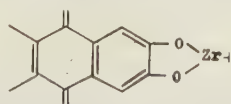
Selon SHIBATA et coll. (1950), les polyhydroxyanthraquinones ayant au moins un hydroxyle en α donnent une coloration caractéristique avec l'acétate de magnésium à 5 % en solution méthanolique, ce test peut se faire en solution ou sur papier (nécessité de chauffer à 90°). Cette réaction s'explique par la formation d'une laque. L'hydrogène chélaté se laisse facilement remplacer par certains métaux et il se forme un nouveau cycle chélaté donnant un sel complexe très coloré.



Cette coloration est pourpre pour un dérivé ayant des hydroxyles en 1 - 4, orangé-rouge s'ils sont en 1 - 3 et 1 - 8, bleu-violet s'ils sont en 1 - 2.

1.3.1.2. Nitrate de zirconium.

D'après FEIGL (1960), les polyhydroxyanthraquinones ayant deux —OH en position ortho donnent une coloration rouge à pourpre violet avec le nitrate de zirconium à 4 % en milieu chlorhydrique dilué. On explique le fait par la formation de laque colorée, le zirconium est alors lié aux deux hydroxyles en ortho d'après le schéma ci-contre. FEIGL en fait même un test général : les hydroxyanthraquinones en solution alcaline donnent un précipité violet ou rouge en présence d'une solution de sel de zirconium. Si ces anthraquinones n'ont pas deux hydroxyles en ortho, la liaison se fait, comme dans le cas de la réaction à l'acétate de magnésium, avec le $=\text{CO}$ quinonique, mais cette liaison est labile en milieu acide et le précipité se décolore.



Sur papier, les anthraquinones ayant deux —OH en ortho réagissent immédiatement et la coloration est vive, les autres anthraquinones réagissent lentement et la coloration est terne.

1.3.1.3. *Alcalis.*

Les polyhydroxyanthraquinones donnent en milieu alcalin des solutions rouges à rouge-violacé (réaction de BORNTRAGER). Quelques rares exceptions : par exemple l'antragallol prend une couleur verte, puis brune.

1.3.1.4. *Hydrosulfite de sodium.*

Une solution alcaline d'hydroxyanthraquinone est réduite par adjonction d'hydrosulfite de sodium. La solution initialement rouge ou violacée devient jaune pâle, par simple agitation à l'air elle se réoxyde et se recoloré (réaction générale des quinones).

1.3.2. *Réactifs des anthranols.*

1.3.2.1. *Réactif de MECKE.*

C'est un mélange d'acide sulfurique et d'anhydride sélénieux. Si on l'ajoute à une solution chloroformique d'anthranol, une teinte bleu-vert apparaît, qui devient rapidement bleu-noir. La réaction originale due à TUNMANN se fait avec des cristaux d'anthranol (SCHMIDT, 1955).

Les anthraquinones donnent une coloration rouge avec ce réactif.

1.3.2.2. *Alcalis.*

En solution alcaline, les anthranols ont une coloration jaune qui à la longue vire au rouge du fait de l'oxydation spontanée en anthraquinone.

1.3.3. *Réactifs des bianthraquinones.*

1.3.3.1. *Acétate de magnésium.*

Les bianthraquinones réagissent positivement à l'acétate de magnésium comme les anthraquinones.

1.3.3.2. *Acide sulfurique concentré.*

Certaines bianthraquinones (ayant un —OH en ortho de la liaison) donnent une couleur vert-émeraude après une coloration pourpre transitoire.

1.4. SPECTROPHOTOMETRIE.

1.4.1. *Polyhydroxyanthraquinones.*

Différentes remarques et règles ressortent des travaux de MORTON et EARLAM (1941), SPRUIT (1949), BRIGGS et coll. (1952), PETER et

SUMNER (1953), BIRKINSHAW (1955) et FRANK et RESCHKE (1960), nous les avons complétées après examen de courbes d'absorption d'hydroxyanthraquinones témoins (M. GABRIEL, 1961). Nous résumons ci-dessous l'essentiel.

Quatre bandes d'absorption caractérisent les polyhydroxyanthraquinones :

210 - 230 $m\mu$,

240 - 265 $m\mu$,

265 - 295 $m\mu$,

400 - 550 $m\mu$.

La courbe d'absorption présente typiquement une chute marquée dans une zone comprise entre 300 et 400 $m\mu$ (exceptionnellement, BIRKINSHAW note l'existence d'une bande ou inflexion entre 310 - 350 $m\mu$ pour certaines anthraquinones possédant plusieurs hydroxyles en β).

L'absorption de la bande 265 - 295 $m\mu$ est nettement accrue par la présence de $-\text{OH}$ en β , par contre elle est diminuée par les $-\text{OH}$ en α , alors qu'inversement l'absorption de la bande 240 - 265 $m\mu$ est accentuée par les $-\text{OH}$ en α et donne lieu à plusieurs maxima (ce que BIRKINSHAW qualifie de structure fine).

L'introduction d'un $-\text{COOH}$ a un effet comparable à celui des $-\text{OH}$ en β ou tout au moins elle a pour conséquence la suppression de la structure fine de la courbe dans le moyen U.V.

L'absorption de la bande en visible, 400 - 550 $m\mu$, est liée à la position en α des $-\text{OH}$, on note l'effet bathochrome du nombre de ces $-\text{OH}$ (BRIGGS, 1952).

1.4.2. Anthranols.

Leur absorption dans le moyen U.V. est semblable à celle de l'anthraquinone correspondante, seule l'absorption dans le visible est modifiée avec un décalage vers les petites longueurs d'onde (effet hypsochrome) (AWE et KUMMEL, 1960).

1.4.3. Bianthraquinones.

D'après SHIBATA et coll. (1956), le spectre d'une bianthraquinone ressemble à celui de l'anthraquinone simple entrant dans sa constitution. Nous avons cependant noté, à la vue des schémas donnés par l'auteur, que certains maxima sont parfois moins marqués ou même absents chez la bianthraquinone.

1.5. CHROMATOGRAPHIE.

SHIBATA et TAKIDO (1950 et 1955) ont séparé de nombreuses anthraquinones naturelles de *Penicillium* ou de lichens par analyse chromatographique sur papier en utilisant principalement les deux solvants :

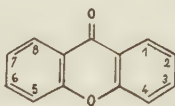
I. Ether de pétrole (45 - 70°) saturé d'alcool méthylique à 97 %.

II. Acétone - Ether de pétrole (60 - 70°) - eau : 50 - 50 - 35.

2. XANTHONES.

Le lecteur pourra se reporter au travail de J. ROBERTS (1961).

2.1. FORMULAIRE.



Les substituants les plus fréquents sont les groupements —OH et —CH₃. Les xanthones naturelles ont toujours un —OH en position 1 ou 8.

2.2. REACTIONS COLOREES.

Les xanthones, naturellement jaunes, deviennent intensément jaunes en présence d'alcalis.

Les hydroxy-1 ou -8 xanthones donnent très fréquemment une coloration verte avec le chlorure ferrique.

2.3. SPECTROPHOTOMETRIE.

2.3.1. Dans l'ultra-violet.

Les spectres des hydroxyxanthones présentent typiquement, dans la région comprise entre 210 et 420 mμ, 3 ou 4 maxima ayant tous un fort coefficient d'extinction.

2.3.2. Dans l'infra-rouge.

Il faut noter particulièrement une forte bande dans la région de fréquence 1660 cm⁻¹, due au groupe carbonyle. Dans le cas des hydroxy-1 ou -8 xanthones, la fréquence est abaissée à 1600 cm⁻¹ du fait de la chélation avec l'hydroxyle.

Les autres bandes dues aux divers groupements phényle, méthyle, hydroxyle, etc..., ne nécessitent pas de commentaires particuliers.

RECHERCHES PERSONNELLES SUR LES BOLETS

INTRODUCTION

Les Bolets se distinguent des autres Hyménomycètes par la présence, à la face inférieure du chapeau, de tubes tapissés intérieurement par l'hyménium. Ces tubes se séparent facilement de la chair piléique par suite d'une différence de consistance due à la gélification des parois des hyphes, ce qui différencie nettement les Bolets des Polypores. On observe d'autre part, au microscope, une bilatéralité de la trame des tubes plus ou moins marquée. Dans des types lamellés, *Phylloporus*, *Paxillus* et *Gomphidius*, on retrouve cette gélification et cette bilatéralité dans la trame des lames. L'affinité de certains d'entre eux avec les Bolets est indiscutable, par exemple *Phylloporus*, *Gomphidius*, dont les spores sont fusiformes comme celles de beaucoup de Bolets.

Tous les types porés étaient placés par FRIES (1874) dans le même genre *Boletus* qui a été démembré depuis.

Le tableau suivant résume la classification la plus récente des Bolets et types voisins (SINGER, 1962). Nous n'avons tenu compte que des genres renfermant les espèces françaises. Nous utiliserons cette classification de SINGER pour la présentation de nos résultats.

PAXILLACEAE.

GOMPHIDIACEAE.

BOLETACEAE :

- | | |
|------------------|---|
| GYRODONTOIDEAE : | <i>Gyroporus</i> , <i>Gyrodon</i> . |
| SUILLOIDEAE : | <i>Boletinus</i> , <i>Suillus</i> (= <i>Ixocomus</i>). |
| XEROCOMOIDEAE : | <i>Phylloporus</i> , <i>Xerocomus</i> . |
| BOLETOIDEAE : | <i>Pulveroboletus</i> , <i>Boletus</i> (= <i>Tubiporus</i>), <i>Leccinum</i> (= <i>Krombholzia</i>), <i>Tylopilus</i> . |

STROBILOMYCETACEAE : *Strobilomyces*, *Porphyrellus*.

Depuis longtemps on a remarqué le bleuissement de la chair chez les Bolétacées, caractère qui les éloigne des Aphyllophorales et des Agaricales proprement dites et qui justifie peut-être la création d'un ordre des Bolétales, indépendant.

Partie expérimentale

1. ETUDE DES PIGMENTS.

1.1. EXTRACTION.

Pour éviter l'oxydation enzymatique du bolétole et, le cas échéant, d'autres pigments, nous plongeons rapidement les morceaux de carpophores dans l'éthanol bouillant (G. BERTRAND, 1902). Pour certaines espèces, l'extrait alcoolique n'est pas stable ; par exemple pour *G. glutinosus*, l'extrait jaune de la base du pied devient rapidement brun noirâtre, nous avons eu recours à l'acétate d'éthyle. Pour quelques *Suillus* nous avons utilisé l'acétone, des pigments particuliers à ce genre disparaissent rapidement des solutions alcooliques mais subsistent plus longtemps dans l'acétone.

Extraction et cristallisation du bolétole témoin :

Nous procédons selon la méthode de G. BERTRAND (1902) à partir d'espèces riches en bolétole (*B. erythropus*, *B. luridus*) par précipitation à l'acétate de plomb neutre.

1.2. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE.

Les deux solvants suivants donnent une bonne séparation ⁽¹⁾ :

(a) Alcool isoamylique - pyridine - eau : 30 - 20 - 15.

(b) Butanol - acide acétique - eau : 40 - 10 - 50.

Le solvant (a) est le solvant qui s'est révélé sélectif pour les anthraquinones des Cortinaires, Rf du bolétole témoin : 0,54.

Le solvant (b) est le classique solvant de PARTRIDGE, Rf du bolétole témoin : 0,29.

Nous avons aussi utilisé un solvant très aqueux, acide acétique - eau : 15 - 85 ou 30 - 70.

1.3. NATURE DES PIGMENTS.

1.3.1. Caractérisation du bolétole.

Il était important, avant d'entreprendre la recherche du bolétole dans les différentes espèces, de pouvoir le caractériser parfaitement, soit sur les chromatogrammes, soit en solution avec divers réactifs.

La solution de bolétole est jaune-orangé ; sous l'action de l'acétate de magnésium elle devient jaune-citrin puis, plusieurs heures après, brun-orangé. Le nitrate de zirconium ne donne pas la réac-

(1) Chromatographie ascendante, papier d'Arches 302.

tion prévue par la présence de deux hydroxyles en ortho. Avec la soude, la solution prend une teinte bleue transitoire qui disparaît rapidement pour laisser place à une couleur orangée. L'acide sulfurique ne produit aucun changement de teinte.

Quelques gouttes de jus de pomme de terre, apportant la phénol-oxydase, font virer la solution alcoolique diluée au vert, puis au bleu.

Le bolétol est soluble dans les solutions de bicarbonates.

Notons que dans les extraits alcooliques bruts, le bolétol disparaît à la longue.

Sur chromatogramme le bolétol est facilement caractérisé, la tache jaune en visible est jaune-orangé en U.V. Elle réagit nettement au jus de pomme de terre en prenant une teinte verte, puis bleue.

La courbe d'absorption en U.V. ⁽¹⁾ donne les maxima suivants :

λ M éthanol : 215 - 257,5 - 395 m μ (fig. 1, p. 27).

Par l'absence de maximum dans le visible, le bolétol se singularise par rapport aux autres anthraquinones possédant 2 —OH en α .

1.3.2. Caractérisation d'un pseudo-bolétol.

L'analyse chromatographique des extraits de *B. piperatus* et de *B. parasiticus* révèle en plus du bolétol un deuxième pigment jaune, de même fluorescence, réagissant de la même manière au jus de pomme de terre et de Rf voisin : Rf 0,45 dans butanol acétique (bolétol 0,29), Rf 0,62 dans l'alcool isoamylique - pyridine - eau, (bolétol 0,54) et Rf 0,40 dans l'acide acétique - eau 30 % (bolétol 0,60). Nous l'avons nommé pseudo-bolétol. Nous l'avons retrouvé dans les Gomphides où il n'est pas accompagné de bolétol. Nous l'avons isolé en particulier de la base des pieds de *G. glutinosus*.

La solution de pseudo-bolétol se comporte comme une solution de bolétol en présence d'acétate de magnésium, de soude et de jus de pomme de terre, cependant avec la soude on obtient directement la teinte finale brun-orangé sans passer par la teinte intermédiaire bleue. Comme le bolétol, il est soluble dans les bicarbonates.

Sa courbe d'absorption en U.V. est superposable à celle du bolétol (fig. 1, page 27) :

λ M éthanol : 215 - 255 - 390-95 m μ .

(1) Pour la spectrophotométrie en U.V., nous avons utilisé l'appareil de JOBIX et YVON.

Notons que dans les extraits, le pseudo-bolétol paraît mieux se conserver que le bolétol.

Il n'est pas impossible que ce pseudo-bolétol soit de l'isobolétol.

1.3.3. Caractérisation d'autres pigments.

Chez plusieurs *Suillus*, nous avons isolé des pigments jaunes différents du bolétol.

L'analyse chromatographique dans trois solvants différents : (a), (b) et acide acétique - eau (15 - 85), révèle qu'il existe un pigment commun à *flavidus* et *luteus* et un autre commun à *elegans* et *tridentinus*.

L'action de divers réactifs permet de penser qu'il s'agit de pigments anthraquinoniques.

Ils sont solubles dans les solutions de bicarbonates.

Les courbes d'absorption en U.V. donnent les maxima suivants :

<i>luteus</i>	μ M éthanol	218 - 275 - 385 $m\mu$.
<i>flavidus</i>	λ M éthanol	218 - 280 - 380 $m\mu$.
<i>elegans</i>	λ M éthanol	218 - 277,5 $\sim$ 330 - 390 $m\mu$.
<i>tridentinus</i> .	λ M éthanol	218 - 275 $\sim$ 320 - 390 $m\mu$.

Pigment jaune du pied de piperatus :

Nous ne connaissons pas la nature de ce pigment, mais nous pouvons cependant préciser qu'il ne s'agit pas d'un pigment anthraquinonique. Ce pigment, bien que très hydrosoluble, n'est pas un glycoside.

Nous avons noté pour sa courbe d'absorption (fig. 2, p. 27) :

λ M eau : 320 - 395 $m\mu$.

D'autres pigments encore, et parfois quantitativement plus importants que le bolétol, peuvent être isolés des Bolets et mériteraient d'être étudiés : pigment jaune de *Phylloporus rhodoxanthus*, pigment jaune brun de *Parillus involutus* et de *Gyrodon lividus*, pigment virant au rose dans l'éthanol de *bovinus*, de *Gomphidius helveticus* et *viscidus*, etc...

2. DISTRIBUTION DES PIGMENTS.

Nous ne récapitulons que la distribution du bolétol et du pseudo-bolétol (tableau I).

Genres	Espèces	Bleuissement à l'air (bl.)	Bolétol	Pseudo-bolétol
BOLETUS Dill. ex Fr. (= TUBIPORUS Karst.)	<i>edulis</i>		*	
	<i>reticulatus</i>		*	
	<i>pinicola</i>		*	
	<i>calopus</i>		*	
	<i>appendiculatus</i>	bl.	*	
	<i>pulverulentus</i>	bl.	*	
	<i>luridus</i>	bl.	*	
TYLOPILUS Karst.	<i>erythropus</i>	bl.	*	traces
	<i>rhodoxanthus (purpureus)</i>	bl.	*	
LECCINUM S.F. Gray (= KROMBHOLZIA Karst.)	<i>felleus</i>			
	<i>nigrescens (crocipodius)</i>			
	<i>aurantiacum</i>			
	<i>carpini</i>			
PHYLLOPORUS Quel.	<i>scabrum (leucophaeus)</i>			
	<i>pelletieri (rhodoxanthus)</i>		*	
XEROCOMUS Quel.	<i>chrysenteron</i>			
	<i>subtomentosus</i>	bl.	*	
	<i>parasiticus</i>		*	
BOLETINUS Kalchbr.	<i>badius</i>	bl.	traces *	*
	<i>cavipes</i>		*	

SUIILLUS Micheli ex S.F. Gray (= IXOCOMUS Quel.)	<i>aeruginascens (viscidus)</i>	bl.	*	
	<i>tridentinus</i>			
	<i>grevillei (elegans)</i>			
	<i>flavidus</i>		traces	
	<i>luteus</i>			
	<i>granulatus</i>		*	traces
GYRODON Opat.	<i>placidus</i>	bl.	*	
	<i>bovinus</i>	bl.	*	
	<i>variegatus</i>		*	
	<i>piperatus</i>		*	*
	<i>lividus</i>	bl.	*	
	<i>castaneus</i>			
GYROPORUS Quel.	<i>cyanescens</i>	bl.		
	<i>floccopus (strobilaceus)</i>			
	<i>pseudo-scaber (prophyrosporus)</i>			
	<i>helveticus</i>			*
	<i>viscidus</i>			*
	<i>glutinosus</i>			*
GOMPHIDIUS Fr.	<i>atrofomentosus</i>			
	<i>panuoides</i>			
	<i>involutus</i>			
PAXILLUS Fr.				

TABLEAU I
BOLETS ET ESPECES AFFINES. DISTRIBUTION DU BOLETOL
ET DU PSEUDO-BOLETOL

Intérêt taxinomique de l'étude des pigments

Boletoidae : il s'agit des plus typiques des Bolets, caractérisés macroscopiquement par des tubes longs, indépendants du stipe, des pores fins et microscopiquement par des spores en fuseau très allongé.

Les deux genres *Boletus* et *Leccinum* constituent la presque totalité de la sous-famille. Tous les *Boletus* examinés contiennent du bolétol; chez *edulis*, espèce à chair blanche, le bolétol est facilement décelable dans les tubes jaunes d'individus âgés. Par contre, aucun des *Leccinum* n'en possède, même *crocipodius* aux tubes jaunes et *aurantiacum* aux bases de pied souvent tachées de bleu.

La plupart des espèces de ces deux genres bien individualisés, les plus évolués parmi les Bolets, réagissent aux phénoloxydases, mais différemment, les unes en bleuissant (par suite de la présence de bolétol), les autres en noircissant.

Quant au *Tylopilus felleus*, rangé par SINGER dans les *Boletoidae*, il ne contient pas de bolétol et ne noircit pas.

Xerocomoideae : toutes les espèces possèdent du bolétol; *parasiticus* n'en contient toutefois que des traces et se singularise par la présence de pseudo-bolétol.

Phylloporus rhodoxanthus renferme autant de bolétol que les autres espèces.

Suilloideae : nous trouvons du bolétol chez *Boletinus cavipes*.

Nous constatons que les *Suillus*, qui présentent cependant une grande homogénéité par leurs caractères morphologiques, ne possèdent pas tous du bolétol; *viscidus* est une espèce polymorphe et certaines de ses formes ayant la chair entièrement blanche ne doivent pas contenir de bolétol (R. KÜHNER, 1927); chez *piperatus*, le bolétol est localisé au niveau des tubes qui contiennent aussi du pseudo-bolétol.

Gyrodontoideae : nous n'avons pas décelé de bolétol chez les *Gyroporus*, même chez *cyanescens*, par contre *Gyrodon lividus* en possède indiscutablement.

Le bolétol, répandu chez beaucoup de *Boletaceae*, manque chez les deux *Strobilomycetaceae* étudiées.

Parmi les espèces lamellées proches des *Boletaceae*, seul *Phylloporus rhodoxanthus* présente du bolétol, il faut remarquer que cette espèce est considérée par les Mycologues comme inséparable de *Xerocomus subtomentosus*.

Par contre, nous n'avons pas décelé de bolétol chez les *Gomphidiaceae* et les *Paxillaceae*. Mais il faut souligner que dans la famille des *Gomphidiaceae*, voisine des *Boletaceae* notamment par ses spores fusiformes, nous avons toujours trouvé du pseudo-bolétol.

Les *Paxillaceae*, plus éloignées des Bolets par leurs spores non fusiformes, ne possèdent ni bolétol ni pseudo-bolétol.

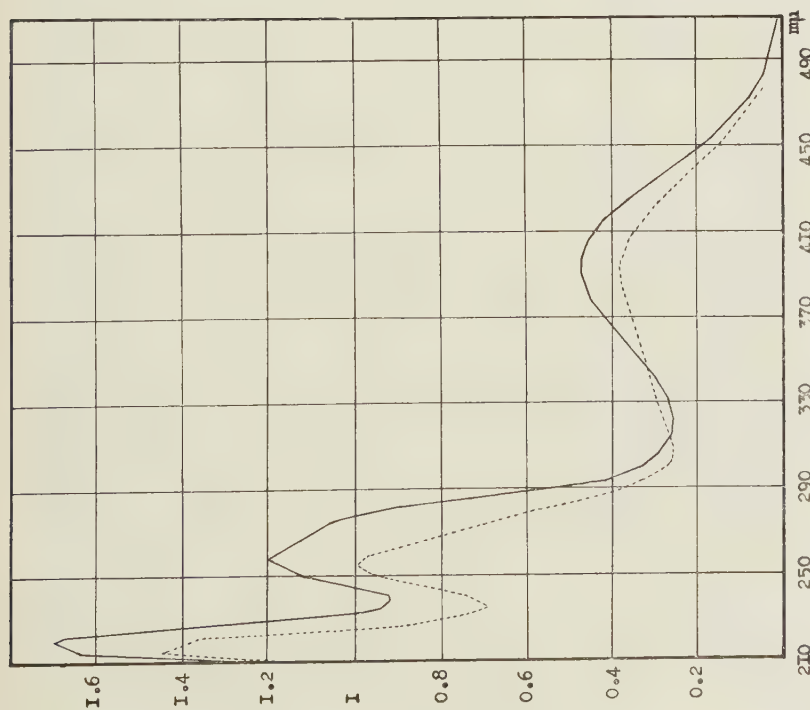


Fig. 1. — Courbe d'absorption du bolétol et du pseudo-bolétol (éthanol 95%), trait continu : bolétol, pointillés : pseudo-bolétol.

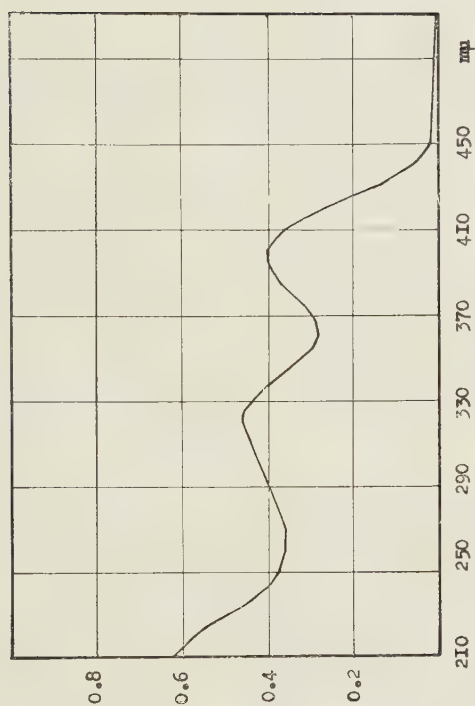


Fig. 2. — Courbe d'absorption du pigment jaune du pied de *B. pipetatus* (eau distillée).

RECHERCHES PERSONNELLES SUR LES CORTINAIRES

INTRODUCTION

Le genre *Cortinarius* Fr. a été divisé par FRIES en plusieurs sous-genres : *Myxacium* à voile universel visqueux (leur pied est donc visqueux comme leur chapeau), *Phlegmacium* dont le chapeau est seul visqueux (les Cortinaires à bulbe marginé : *Scauri*, appartiennent à ce sous-genre), *Hydrocybe* et *Telamonia* non visqueux mais à chapeau hygrophane, enfin *Dermocybe* et *Inoloma* non visqueux et à chapeau non hygrophane.

Dans nombre de ces sous-genres, on observe de grandes variations de couleur suivant les espèces. R. KÜHNER (1949) a montré que la localisation microscopique des pigments est importante à considérer. Comme la plupart des Agaricales ochrosporées, les Cortinaires présentent dans leurs carpophores des hyphes à pigments membranaires, comme le sont ceux de leurs spores. Ils forment souvent des plaques colorées ou des incrustations plus ou moins fines à la surface externe de la paroi cellulaire ; ils sont généralement bruns ou jaunes, souvent localisés à la surface du chapeau, ils peuvent intéresser les hyphes profondes de la chair, de la trame, des lames et du pied chez de nombreuses espèces hygrophanes. Ces pigments sont difficilement extractibles.

Par contre, les pigments bleus ou violets qui colorent le cytoplasme de façon diffuse, sont très caractéristiques du genre *Cortinarius*, on les trouve çà et là dans tous les sous-genres, alors qu'on ne les rencontre ailleurs que de façon tout à fait exceptionnelle. Ces pigments semblent s'altérer assez vite, puisque les colorations qu'ils communiquent aux carpophores ne s'observent souvent que dans les parties jeunes (marge piléique, sommet du pied, lames jeunes). Enfin, d'autres pigments sont intercellulaires ou vacuolaires, de couleurs variées, olive, jaune ou rouge notamment, ces deux types de pigments sont facilement extractibles et relativement stables. Ce sont les seuls dont nous ayons entrepris jusqu'ici l'étude. Cela exclut de notre travail tous les *Myxacium* et presque tous les Hygrophanes dont nous n'avons étudié que *bulliardi* à cause de la couleur rouge de la base du pied.

SOUS-GENRE DERMOCYBE FR. SENSU ORTON 1958

Introduction botanique

DELIMITATION DU SOUS-GENRE.

Sous-genre réduit par P.-D. ORTON et R. SINGER à la section *** de E. FRIES (espèces à lames rouges ou jaunes) ; il correspond à l'ensemble des sections *Sanguinei* et *Cinnamomei* de R. KÜHNER et H. ROMAGNESI, sections distinguées par la couleur des lames, rouge chez les *Sanguinei*, orangé-jaune ou olive chez les *Cinnamomei*.

ESPECES ET VARIETES ETUDIEES.

SANGUINEI :

sanguineus (Wulf. ex Fr.) Fr., *semisanguineus* (Fr.) Gillet, *phoeniceus* (Bull.) Maire, *cinnabarinus* (Fr.).

CINNAMOMEI :

uliginosus Berk., *sphagneti* Orton (= *cinnamomeus* variété *paludodosus* Fr.), *olivaceofuscus* Kühner, *cinnamomeolutescens* Henry (= *cinnamomeus* sensu Ricken, Lange), *conformis* Fr., *croceus* Fr., *malicorius* Fr.

De nombreuses espèces de *Cinnamomei* ont été décrites par R. HENRY (1939). Plusieurs d'entre elles sont reprises par P.-D. ORTON (1958), à qui l'on doit des tableaux synoptiques très clairs qui nous donnent le premier aperçu d'ensemble d'une section où la spécification nous paraît loin d'être au point.

Les trois premières espèces de notre liste sont prises dans le sens de R. KÜHNER (1955 et 1960) et, semble-t-il, de ORTON. Notre *cinnamomeolutescens* paraît être celui de ORTON, notamment par ses spores relativement grandes, $(8,2) - 9 - 10 - (11) \times 5,2 - 6 - (6,5) \mu$. Nous rapportons à cette espèce deux récoltes du Haut-Beaujolais (1959-1960) et une récolte des Echets (K - Ly. 61-55), nous avons également étudié une récolte du Haut-Beaujolais (K - Ly. 61-41), qui était bien conforme à l'icône de LANGE (LANGE, 1935-1940), mais qui a donné des spores plus petites, $7,7 - 8,2 \times 4,5 - 5 \mu$.

Nous prenons ici *malicorius* au sens de R. KÜHNER (1960), caractérisé, en particulier, par l'absence de masses extra-cellulaires jaunes dans la trame des lames et par ses spores particulièrement petites, $5,5 - 5,7 (6) \times 3,7 - 4 - 4,2 \mu$, sur les carpophores dont nous avons extrait les pigments ; ce n'est pas le *malicorius* d'ORTON qui présente des masses pigmentaires dans les lames et des spores plus grandes, $(5,5) - 6 - 8 \times 4 - 5 \mu$; par ces deux

caractères, le champignon d'ORTON se rapproche beaucoup de notre *conformis* qui nous a donné des spores de $6,5 - 7 - 7,5 - (8,5) \times 4 - 5 \mu$, et nous croyons qu'il s'agit de la même espèce.

Nous avons appliqué le nom de *croceus* à une récolte du Haut-Beaujolais (K. Ly. 61-38), le champignon correspondait assez bien à la planche de LANGE (pl. n° 95, LANGE, 1935-1940), mais beaucoup moins bien à la description donnée ; ce champignon est certainement très proche de *conformis* à la fois par la couleur des lames et les dimensions sporiques, $7,7 - 8 \times 4,5 - 4,7 \mu$, mais nous croyons qu'il en est différent, contrairement à ce que pensait ORTON qui synonymise *conformis* et *croceus* à *croceofolius* Peck ; d'ailleurs, son *croceofolius* a des spores beaucoup plus petites.

Partie expérimentale

1. ETUDE DES PIGMENTS.

1.1. EXTRACTION.

La courte période d'apparition des carpophores conduit inévitablement à la nécessité du stockage. On peut envisager le stockage des carpophores desséchés ou le stockage d'extraits de matériel frais. Nous procédons généralement à l'extraction sur matériel frais, ceci pour éviter les oxydations des pigments (des anthranols par exemple).

Le solvant employé est l'éthanol bouillant dans lequel sont plongés les morceaux de carpophores, l'ébullition est maintenue au moins un quart d'heure pour empêcher toute action enzymatique. Nous avons parfois eu recours au chloroforme pour extraire sélectivement les pigments extra-cellulaires.

Exceptionnellement, nous avons utilisé des carpophores secs pour deux espèces, *olivaceofuscus* et *sphagnet*, pour lesquelles nous ne disposions que d'exsiccata. Ces exsiccata ne dataient que de quelques semaines (des extractions comparatives effectuées, pour certaines espèces, entre des carpophores frais et de tels exsiccata ne nous ont pas donné de résultats sensiblement différents).

Nous n'avons pas procédé à une extraction totale. Il est vraisemblable que certains pigments ne sont pas extraits, notamment, comme nous avons pu le vérifier (M. GABRIEL, 1960 b), les pigments brunâtres responsables des teintes sombres de certaines espèces et correspondant à des incrustations de la membrane.

1.2. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE.

Après des essais avec les solvants I et II de Shibata ⁽¹⁾ et d'autres tels que butanol - acide acétique - eau (40 - 10 - 50) et eau - acétone (30 - 2,5), c'est le solvant alcool isoamylique - pyridine - eau (30 -

(1) Voir la composition de ces solvants page 18.

	Rf	Aspect et réactions colorées			
		visible	U. V.	ammoniaque	acétate de magnésium
1	0,90	jaune-orangé	jaune-citron	rose	rose
2	0,86	mauve	non fluorescent	mauve	mauve
2'	0,82	jaune	orangé	jaune	jaune
3	0,80	jaune	orangé	rose	rose-orangé
3'	0,60	jaune pâle	non fluorescent	gris-bleu	gris-mauve
4	0,50	mauve-purpurin	non fluorescent	mauve-violet	mauve-violet
5	0,39	rose	rose clair	mauve	pourpre
6	0,34	jaune	orangé terne	rose	orangé
6'	0,30	rose	chair	mauve	bleu-violet
7	0,28	jaune-orangé	jaune orangé	rose-mauve	pourpre
8	0,18	rose	mauve	violet	mauve-violet
9	0,14	jaune	brun- (1) orangé	orangé fugace	jaune orangé
10	0,13	rose-orangé	orangé	pourpre	violet
11	0,05	mauve	peu fluorescent	mauve	mauve
12	0,04	rouge	pourpre	rouge	rouge
13	0	jaune très pâle	jaune vif lumineux	jaune	néant

TABLEAU II

SOUS-GENRE *DERMOCYBE*. LISTE DES PIGMENTS
(chromatographie dans alcool isoamylique-pyridine-eau)

(1) Couleur masquée partiellement par des bleus.

20 - 15) qui s'est révélé le plus intéressant. La séparation est effectuée en chromatographie ascendante, dans des cuves cylindriques (9,5 × 48 cm) sur papier d'Arches 302.

Selon les espèces, de 6 à 10 pigments sont ainsi mis en évidence avec des Rf allant de 0,04 à 0,9 (fig. 3). Ils sont jaunes, orangés, roses ou mauves. Pour la presque totalité, les teintes deviennent roses ou violettes aux vapeurs d'ammoniaque et prennent une coloration caractéristique après pulvérisation à l'acétate de magnésium. La plupart ont une fluorescence en « lumière de Wood ».

La liste des pigments et ces observations sont consignées dans le tableau II. Les pigments sont numérotés par ordre de Rf décroissant.

On pourrait craindre que la pyridine utilisée dans le solvant n'entraîne pour un même pigment la formation d'une tache supplémentaire due à une forme ionisée ou complexée avec cette pyridine, mais les chromatogrammes obtenus avec d'autres solvants montrent qu'il n'en est rien .

1.3. LISTE DES PIGMENTS.

(Voir le tableau II.)

Les pigments trouvés chez *cinnabarinus* sont tous différents de ceux caractérisés dans ce tableau. Nous pensons que cette espèce n'est pas un *Dermocybe* ; nous la traitons plus loin avec *bulliardi*.

1.4. STRUCTURE.

1.4.1. Apport de la chromatographie.

Réactions colorées et structure :

Tous les pigments séparés, à part le 13 et le 2', présentent la réaction de BORNTRAGER et après action de l'acétate de magnésium, les colorations caractéristiques des hydroxyanthraquinones. Le pigment jaune-orangé 1 a été identifié comme étant l'émodyne, après chromatographie en présence d'émodyne témoin provenant de la rhubarbe (GABRIEL, 1960 a). Le pigment mauve 2 est la dermocybine (isolée selon KÖGL, 1925 a).

La plupart de ces pigments sont stables, ils conservent sur les chromatogrammes leur teinte initiale, par contre le pigment jaune vif 2' qui ne réagit ni à l'acétate de magnésium, ni aux vapeurs d'ammoniaque, devient en quelques jours jaune terne et donne alors avec les vapeurs d'ammoniaque une teinte orangé-brun. Il s'agit d'un anthranol, comme nous le verrons ultérieurement.

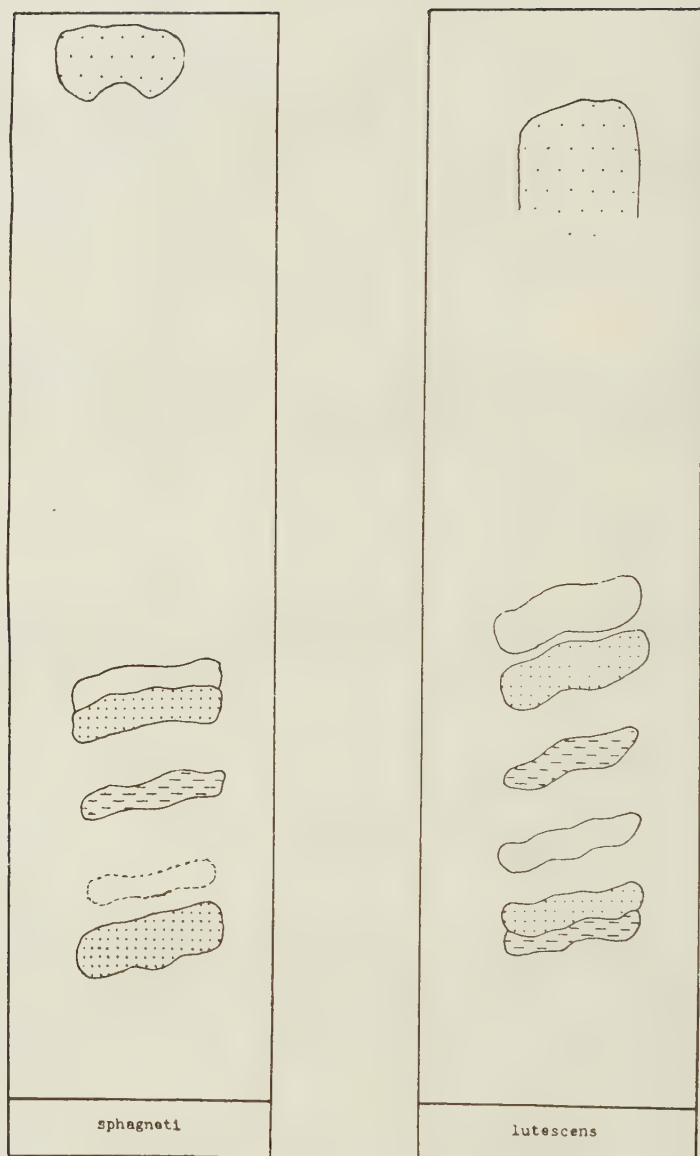


FIG. 3. — Chromatographie ascendante d'extraits alcooliques de *Dermocybe* dans le solvant alcool isoamylique-pyridine-eau (30-20-15), en pointillés : pigments jaunes ; en tirets : pigments orangés ; en blanc : pigments roses.

Quant au pigment jaune pâle 13, très fluorescent, il n'est pas de nature anthraquinonique.

Rf et structure :

Les solvants de SHIBATA ne font pas migrer les pigments des *Dermocybe*, seule une tache se sépare dans le cas de *sanguineus* et *malicorius*, elle correspond à l'émodine.

Nous remarquons, en considérant les Rf donnés par SHIBATA à propos de différentes anthraquinones que dans le solvant I les anthraquinones trihydroxylées migrent très peu à moins qu'elles ne soient méthylées ; les tétrahydroxylées ne sont pas déplacées.

En outre, la position en α ou β d'un hydroxyle intervient de façon considérable sur le Rf, un seul hydroxyle en β freine le déplacement, il en est de même pour les substituants $-\text{CH}_2\text{OH}$ et $-\text{COOH}$:

dihydroxy-4, 5 méthyl-2 anthraquinone Rf 0,92,
dihydroxy-4, 5 éthyl-2 anthraquinone Rf 0,15,
dihydroxy-4, 5 carboxyl-2 anthraquinone Rf 0.

Nous avons procédé dans le solvant II de SHIBATA (solvant plus polaire) à la chromatographie d'anthraquinones témoins. Comme dans le solvant précédent, la position en β des hydroxyles ou la présence d'un $-\text{COOH}$ freinent la migration (par exemple, pour le bolétol, Rf 0).

Nous avons effectué de même la chromatographie d'anthraquinones témoins dans notre solvant de séparation (30 - 20 - 15), or il n'apparaît pas sélectif ; tous les Rf sont compris entre 0,7 et 0,9 même si les anthraquinones ont un substituant $-\text{CH}_2\text{OH}$ ou plusieurs $-\text{OH}$ en β , cependant la présence d'un $-\text{COOH}$ semble diminuer le Rf :

(1) purpurine Rf 0,9,
bolétol Rf 0,5.

En conclusion, l'hypothèse d'anthraquinones ayant un substituant $-\text{COOH}$ est donc plausible, nous pouvons aussi penser qu'il s'agit d'anthraquinones complexes de poids moléculaire élevé, par exemple de bianthraquinones.

1.4.2. Apport des caractères de solubilité et des réactions chimiques.

Dans le but de préciser la structure des pigments séparés par chromatographie, nous avons procédé à l'isolement de plusieurs

(1) Le bolétol ne diffère de la purpurine que par la présence supplémentaire d'un $-\text{COOH}$.

d'entre eux. Tout d'abord, extraction de certaines parties du carpophore riches en tel ou tel pigment (voir 2.2. Répartition dans différentes parties du carpophore), puis chromatographie et élution des taches :

Pigment jaune 3 : lames de *malicorius* ou de *conformis*.

Pigment mauve 4 : lames de *phoeniceus*.

Pigment rose 5 : cuticule piléique de *uliginosus* ou lames de *conformis*.

Pigment jaune 6 : pied et cuticule piléique de *semisanguineus*.

Pigment jaune 2' : *cinnamomeolutescens* ou *conformis* (extrait chloroformique).

L'élution de chaque pigment à partir de bandes chromatographiques donne un produit pur à partir duquel nous avons parfois obtenu des cristaux (pigment 3 et 4).

1.4.2.1. Anthraquinones.

La solubilité dans les bicarbonates des pigments 3, 4, 5 et 6, implique soit une fonction acide, soit un grand nombre de —OH en β .

La réaction au nitrate de zirconium est positive pour le pigment rose 5, donc deux hydroxyles sont en position ortho.

L'hydrosulfite de sodium en milieu alcalin, à chaud, permet la scission des bianthraquinones (SHIBATA-MURAKAMI, 1955 et 1956). Nous avons appliqué cette technique aux pigments 1, 3, 5 et 6, seuls les pigments 5 et 6 sont modifiés, ils sont toujours de nature anthraquinonique mais ils ont un Rf beaucoup plus élevé. Notons que ce traitement peut provoquer chez certaines anthraquinones la perte d'un hydroxyle situé en α .

1.4.2.2. Anthranol.

Le pigment jaune 2', qui se singularise sur les chromatogrammes comme nous l'avons observé précédemment, peut être facilement isolé par simple extraction à froid au chloroforme, les autres pigments n'étant pas extraits par ce solvant. Il passe en solution alcaline en gardant sa teinte jaune. Il donne nettement la réaction des anthranols avec le réactif de MECKE.

L'action de l'eau oxygénée à 2 % en milieu alcalin après un chauffage de quatre à cinq minutes au bain-marie bouillant permet de l'oxyder en anthraquinone.

L'anthraquinone obtenue ne correspond à aucun des pigments extraits par nous jusqu'ici chez les *Dermocybe*.

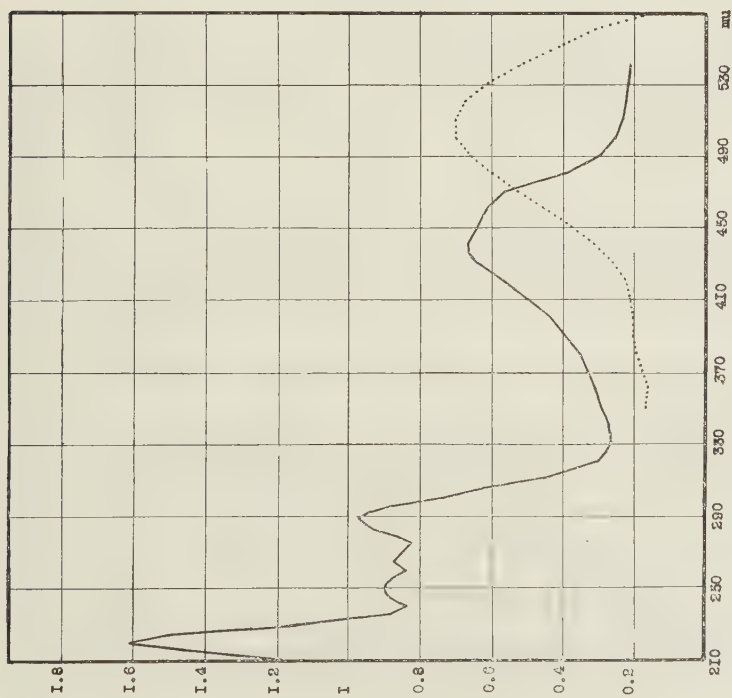


FIG. 4. — Courbe d'absorption du pigment 1, émodine (éthanol 95°), pointillés : en présence d'acétate de Mg.

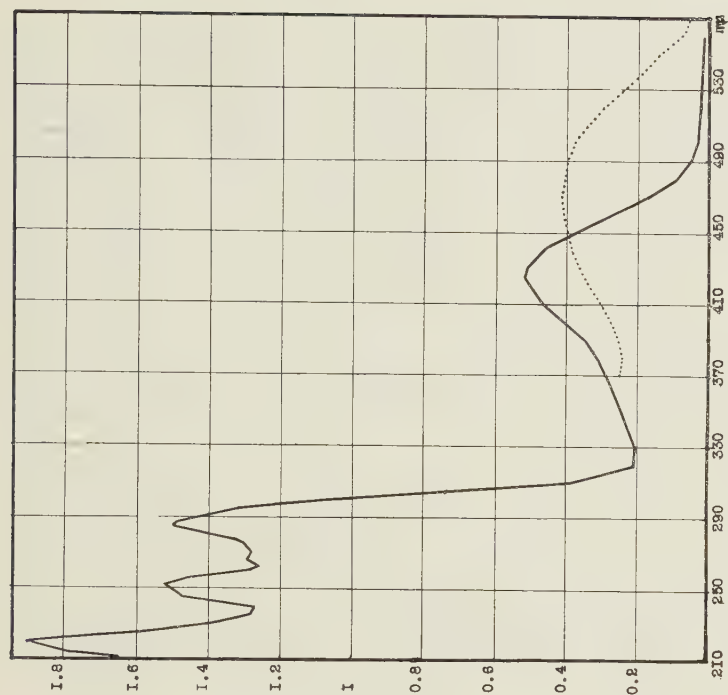


FIG. 5. — Courbe d'absorption du pigment 3 (éthanol 95°), pointillés : en présence d'acétate de Mg.

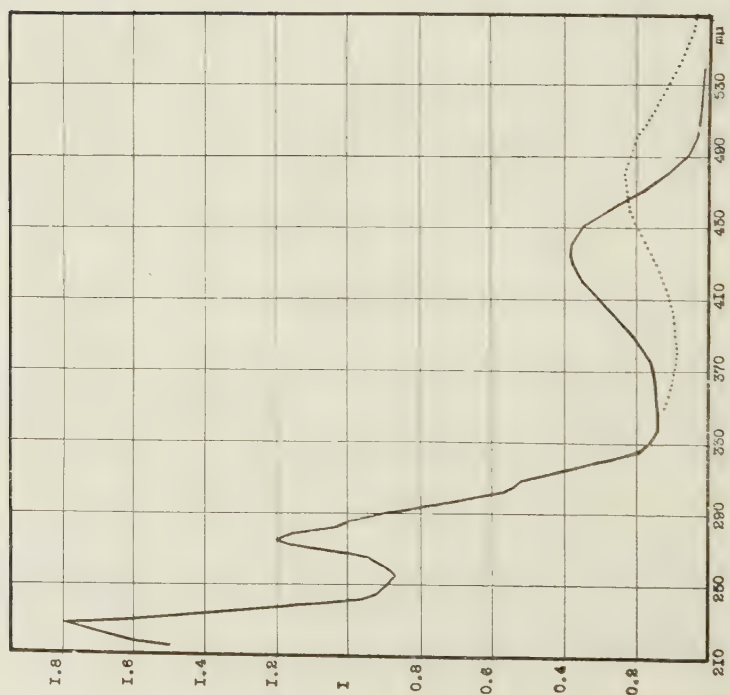


Fig. 6. — Courbe d'absorption du pigment 6 (éthanol 95°), pointillés : en présence d'acétate de Mg.



Fig. 7. — Courbe d'absorption du pigment 5 (éthanol 95°), pointillés : en présence d'acétate de Mg.

1.4.3. Apport de la spectrophotométrie.

1.4.3.1. Anthraquinones.

L'examen des spectres permet les constatations suivantes :

L'émodine caractérisée et séparée par chromatographie donne un spectre identique à celui indiqué par BIRKINSHAW (1955), qu'elle provienne de *sanguineus* ou de *malicorius* :

λ_M éthanol : 222 - 252 - 265 - 289 - 437 $m\mu$,

le spectre du pigment jaune 3 en est voisin :

λ_M éthanol : 220 - 252 - 266 - 285 - 425 $m\mu$.

Ces deux pigments ont en U.V. une courbe d'absorption de « structure fine » (fig. 4 et 5), par contre les autres pigments étudiés 4, 5, 6 et 9, se distinguent par la simplicité de leur courbe (fig. 6 et 7).

4 λ_M éthanol : 215 - 280 $\sim$ 350 - 488 $\sim$ 520 $\sim$ 560.

5 λ_M éthanol : 228 - 278 - 310 - 495 $\sim$ 530,

6 λ_M éthanol : 228 - 275 $\sim$ 308 - 435,

9 λ_M éthanol : 225 - 272,5 $\sim$ 305 - 425.

L'absence de la bande 240 - 265 $m\mu$ suggère une prédominance de —OH en β ou l'existence d'un substituant —COOH.

1.4.3.2. Anthranol.

Le spectre U.V. de l'anthranol rappelle celui des pigments 5 et 6. Son oxydation n'apporte aucune modification dans la région U.V., dans le visible déplacement bathochrome de 25 $m\mu$ (GABRIEL, 1961).

Les observations faites dans les paragraphes précédents sont en accord avec l'hypothèse d'un substituant —COOH sur le noyau anthraquinonique sans exclure cependant l'éventualité d'une structure bianthraquinonique.

2. DISTRIBUTION DES PIGMENTS.

Cette distribution n'est envisagée dans ce paragraphe qu'à l'échelle macroscopique ; les observations microscopiques sont notées plus loin (voir microtopographie).

Les résultats sont récapitulés dans les tableaux III et IV. La plus ou moins grande abondance des pigments est indiquée par des signes *.

2.1. Distribution selon les espèces (tableau III).

2.2. Répartition dans différentes parties du carpophore (tableau IV).

GROUPE CINNAMOMEI										
GROUPE SANGUINEI										
sanguineus		semi-sanguineus	phoeniceus	croceus	conformis	mallicorius	lutescens	sphagneti	uliginosus	olivaceo-fuscus
1	***					**				
2	*									
2'				**	**		**	*	*	
3	***					***				
3'	*	**	*							
4	***	***	***							
5	***	***	***	***	***	*	***	*	***	
6	*	***	***	*	**	***	***	*	*	
6'										*
7				**	*		**	*	*	*
8				*	**		**	*	**	*
9				*	**	*	**	*	*	*
10							*			
11	*		*							
12		*	*		*	*				
13		**								

TABLEAU III
SOUS-GENRE *DERMOCYBE*. DISTRIBUTION DES PIGMENTS

	PHOENICEUS			SEMISANGUINEUS			CONFORMIS			LUTESCENS			ULIGINOSUS		
	PIED jaune stries rouges	LAMES rouge sanguin	CUTIC. ocre rou- geâtre	PIED jaune	LAMES rouge sanguin	CUTIC. brun jaune	PIED jaune	LAMES orangé	CUTIC. fauve	PIED jaune brun	LAMES jaune brun olive	CUTIC. brun jaune	PIED rouge	LAMES jaune	CUTIC. rouge
1															
2															
2'							**	*	*	**	*		*	*	
3															
3'		**	***			**									
4		***			***										
5	***	***	***	*	***		***	*	*	***	*	***	***	*	***
6	***	***	**	***	***	***	***	*		***	*	*	*	***	*
6'															
7									*		***	*	***	*	***
8							***	*	*	*	*	***	***	*	***
9							***	*	*		***	***	***	***	*
10										*		*			
11	**	*													
12	*	**	**	**	*	*	*								
13				***	*	*									

TABLEAU IV
REPARTITION DES PIGMENTS DANS DIFFERENTES
PARTIES DU CARPOPHORE

(1) Localisé principalement à la base du pied.

En parcourant ces tableaux, le Mycologue spécialiste des Cortinaires peut être amené à faire des constatations qui l'étonnent à côté d'autres qui s'expliquent aisément. Ainsi, la présence de pigments roses dans nos extraits de cuticule piléique de *phoeniceus* ou *uliginosus* ne surprend pas puisque ce revêtement tire franchement sur le rouge et révèle au microscope des hyphes à contenu rose ; de même, le revêtement du chapeau de *croceus* a montré à R. KÜHNER des hyphes à contenu rouge.

On ne s'étonne pas de trouver en abondance dans les lames de *conformis* les pigments roses 5 et 8 à côté des pigments jaunes 2', 6, 9 et du pigment orangé 7, car leur mélange peut rendre compte de la coloration safranée ou souci des lames de ce champignon. La comparaison des chromatogrammes d'extraits de lames de *conformis* et de *cinnamomeolutescens* montre mieux que les tableaux que les roses sont moins concentrés chez ce dernier, d'où peut-être la couleur plus jaune-citrin (subolivacé) de ses lames. Il y a même des récoltes de *cinnamomeolutescens* (Ly. 61 K 55 - K 41) où l'extrait du champignon entier ne montre pratiquement que des jaunes.

De même la présence de pigment purpurin dans les *Sanguinei* et notamment dans leurs lames était prévisible, puisqu'elles ont cette couleur, par contre on s'étonne que l'abondance des pigments jaunes chez *sanguineus* n'infléchisse pas sa couleur vers des rouges plus orangé.

On s'étonne bien davantage que le pied de *cinnamomeolutescens*, qui est citrin ou sulfurin dedans comme dehors, ne renferme pas que des pigments jaunes mais puisse contenir, parfois même en quantité importante, un pigment rose 5.

Ceci conduit à se demander si tous les pigments extraits et séparés existent réellement dans le champignon vivant.

2.3. VALIDITE DES RESULTATS.

Certains pigments roses des chromatogrammes ne proviendraient-ils pas de l'altération des pigments jaunes ? Nous savons avec quelle facilité des pigments jaunes virent justement au rose. Or, il est certain que les pigments roses 5 et 8 doivent être, par leur composition chimique, respectivement très proches des pigments jaunes 6 et 9, ils leur sont accouplés sur les chromatogrammes et, surtout, *uliginosus* ne diffère de son mutant *luteus* que par la cuticule du chapeau à pigments 5 et 8 au lieu de 6 et 9 (M. GABRIEL et D. LAMOURE, 1965).

Mais nous pouvons remarquer, à l'encontre de cette hypothèse d'une altération des pigments jaunes que, justement, la variété *luteus* d'*uliginosus* n'a jamais, dans la cuticule du chapeau, que

des pigments jaunes 6 et 9, que la cuticule du chapeau de *semi-sanguineus* est riche en jaune 6 mais n'a pas de rose 5, que le pied et la chair de *conformis* ont les jaunes 6 et 9, sans les roses 5 et 8.

Notons également que si la plupart des pigments apparaissent nettement fluorescents sur les chromatogrammes alors que les carpophores sont peu ou non fluorescents (à l'exception des pieds de *semisanguineus*), cela s'explique par un état physico-chimique différent.

Microtopographie de la pigmentation

Les indications relatives à la localisation microscopique de la coloration sont dues à R. KÜHNER (1949, 1955, 1960). Elles nous ont permis d'établir une correspondance entre les pigments isolés par les techniques chimiques et les colorations observables in situ par le Mycologue.

Les pigments facilement extractibles se répartissent en deux catégories, comme l'a montré cet auteur : pigments extracellulaires ou s'accumulant dans des cellules mortes (vieilles basides notamment) et pigments vacuolaires, donc situés à l'intérieur de cellules vivantes.

PIGMENTS EXTRACELLULAIRES.

Chez de nombreux *Cinnamomei*, R. KÜHNER a remarqué la présence, entre les hyphes de la trame des lames, de masses jaune vif de forme irrégulière, réfringentes mais non biréfringentes. Elles se retrouvent également entre les hyphes de la chair du chapeau et du pied. Ces masses jaunes manquent aux *Sanguinei* ; pourtant elles ne sont pas absolument caractéristiques des *Cinnamomei*, comme R. KÜHNER le croyait d'abord, il a en effet reconnu que deux *Cinnamomei*, *malicorius* et *olivaceofuscus*, n'en présentent pas. La connaissance de ces faits a été précieuse pour savoir à quelle tache des chromatogrammes correspond le pigment interhyphique des *Cinnamomei* communs. Il ne pouvait s'agir que du pigment jaune 2', c'est-à-dire de l'antranol. Nous avons pu le vérifier grâce au réactif de MECKE sur des coupes préalablement desséchées, les masses interhyphiques se colorent en bleu noir (vérifié sur *cinnamomeolutescens*, *conformis* et *uliginosus* notamment).

R. KÜHNER a noté que ces masses jaunes se dissolvent dans l'ammoniaque, comme le fait l'antranol, et il a vu que sur exsiccata elles deviennent brunâtres et rougissent en présence de ce réactif ; il s'agit d'une oxydation de l'antranol ou anthraquinone comparable à celle que nous avons réalisée in vitro par l'eau oxygénée.

R. KÜHNER (1960) et D. LAMOURE ont remarqué, sur des carpophores âgés de *sphagneti*, que les gros corps jaunes sont remplacés par des amas pigmentaires d'un brun olivacé pouvant être très dispersés et qui rappellent ceux trouvés chez *olivaceofuscus* (R. KÜHNER, 1955), or d'après nos chromatogrammes, *sphagneti* ne possède pas toujours le pigment 2' et dans ces cas nous trouvons alors, très près du front du solvant, un autre pigment jaune-brun clair à fluorescence crème qui rappelle un pigment de Rf voisin décelé chez *olivaceofuscus*.

PIGMENTS VACUOLAIRES.

Il est probable que tous les pigments extractibles autres que les anthranols sont des pigments vacuolaires. Les observations microscopiques tendent à le prouver, mais jusqu'à présent nous n'avons pas réussi à les localiser individuellement avec certitude.

La cuticule de *semisanguineus*, dont les vacuoles sont colorées en jaune, contient d'après l'analyse chromatographique, principalement le pigment jaune 6. La cuticule de *phoeniceus* possède à la fois des vacuoles jaunes et des vacuoles roses, la coloration rose serait due au pigment 5, seul rose abondant sur les chromatogrammes ; quant aux vacuoles jaunes, leur coloration serait due soit au pigment 6, soit au pigment 3', soit à leur présence simultanée. Pour *uliginosus*, il est aussi très probable que les pigments roses 5 et 8 des chromatogrammes sont responsables de la coloration vacuolaire rose de la cuticule, et pour sa variété luteus à vacuoles jaunes il s'agirait des pigments jaunes 6 et 9.

Chez *sphagneti*, R. KÜHNER indique dans la cuticule du chapeau, la présence de vacuoles jaune-orangé ne variant pas sensiblement à l'ammoniaque, il y a tout lieu de penser que la coloration est due au pigment jaune 9 abondant sur les chromatogrammes et ne se colorant pas en rouge sous l'action de l'ammoniaque.

Nous relevons encore d'autres observations indiquant la présence de pigments vacuolaires et complétant ces remarques : coloration vacuolaire jaune, rougissant à l'ammoniaque des hyphes de la surface du chapeau de *malicorius* et *oalivaceofuseus*, coloration vacuolaire rouge de la trame des lames de *semisanguineus* et *phoeniceus* (particulièrement manifeste de part et d'autre du plan médian, surtout vers l'hyménopode) ; coloration intracellulaire uniformément citrine de la trame des lames de *malicorius*, coloration orangée de son sous-hyménium ou de celui de *cinnamomeolutescens*.

Intérêt taxinomique de l'étude des pigments

D'après leur répartition dans les différentes espèces, il est possible de classer les pigments en 3 catégories :

1) Pigments particuliers à une ou deux espèces, distinguant celles-ci des autres espèces du sous-genre ou de la section.

2) Pigments caractéristiques d'une section en ce sens qu'ils se trouvent dans la majorité sinon la totalité des espèces d'une section et qu'ils manquent aux espèces de l'autre section.

3) Pigments caractéristiques du sous-genre, c'est-à-dire communs à tous les *Dermocybe*, qu'il s'agisse des *Sanguinei* ou des *Cinnamomei*.

a) Pigments particuliers à une ou deux espèces : ils permettent de différencier des espèces morphologiquement voisines et parfois confondues. Ainsi le pigment jaune 13 non anthraquinonique du pied de *C. semisanguineus* sépare nettement cette espèce de *C. phoeniceus*. (La vive fluorescence du pied qui permet de distinguer facilement *semisanguineus* de *phoeniceus* est due à ce pigment.) De même, les pigments jaune-orangé 1 (émodine) et jaune 3 de *malicorius* le distinguent de *conformis* auquel il ressemble.

b) Pigments caractéristiques d'une section : pour les *sanguinei*, ce sont les pigments 3' et 4 non fluorescents que nous n'avons rencontrés chez aucun *Cinnamomei*.

Le mauve purpurin 4 est l'un des responsables essentiels de la coloration des lames des *Sanguinei*. Le jaune 3' paraît moins abondant, peut-être parce qu'il est pâle ; il est remarquable par son virage au gris-bleu en présence d'ammoniaque.

Les *Cinnamomei* sont caractérisés par l'anthranol, pigment jaune 2', qui forme les énormes masses jaune vif que R. KÜHNER a repérées depuis longtemps dans de nombreux *Cinnamomei*, il manque cependant dans deux espèces : *malicorius* et *olivaceofuscus*, mais il est toujours absent chez les *Sanguinei*. Les autres pigments spécifiques de cette section sont les pigments fluorescents orangé 7, rose 8 et jaune 9. Aucun de ces pigments n'apparaît dans les *Sanguinei* alors qu'ils se trouvent dans la plupart des *Cinnamomei*, peut-être même chez tous pour l'orangé 7.

c) Pigments caractéristiques du sous-genre : ce sont deux pigments fluorescents, le rose 5 et le jaune 6. Ce pigment 6 se retrouve dans des sous-genres de Cortinaires autres que *Dermocybe*, alors que jusqu'ici le rose 5 n'a été décelé que chez les *Dermocybe* dont il paraît être une des caractéristiques les plus générales. *C. olivaceofuscus* est la seule espèce pour laquelle nous ne les avons pas trouvés.

On remarque d'autre part que ces pigments, communs aux deux sections, ont un Rf moyen, intermédiaire entre le Rf plus élevé des pigments caractéristiques des *Sanguinei* et le Rf plus bas des pigments caractéristiques des *Cinnamomei*.

Si l'on considère que le pigment jaune 6, ou des pigments jaunes de Rf très voisins, se retrouvent dans des Cortinaires autres que les *Dermocybe*, on peut arriver à l'idée que les autres pigments spécifiques des *Sanguinei* et des *Cinnamomei* dérivent de pigments de type 6.

SOUS-GENRE HYDROCYBE FRIES

Introduction botanique

Peu d'*Hydrocybe* présentent des couleurs jaunes ou rouges ; cependant les espèces de la section *Miniatopodes* ont le mycélium ou la base du pied, rouge. Nous avons étudié une espèce de *Miniatopodes* : *C. bulliardi* Fr. ex Pers.

R. KÜHNER et H. ROMAGNESI (1953) ont fait remarquer que *C. cinnabarinus* Fr., rangé par les auteurs dans les *Dermocybe* à proximité des *sanguineus*, diffère de ces derniers par son chapeau hygrophane. Par ce caractère, il peut être considéré comme un *Hydrocybe*.

R. KÜHNER a noté d'autre part que la couleur du pied de *cinnabarinus* est très proche de celle de la base de *bulliardi*, par exemple K 101 et 106 ⁽¹⁾. Au cas où cette similitude de coloration traduirait une analogie dans la constitution des pigments, le transfert de *cinnabarinus* des *Dermocybe* dans les *Hydrocybe* s'imposerait davantage. Des précisions sur ce point sont données ci-après.

Partie expérimentale

1. ETUDE DES PIGMENTS.

1.1. EXTRACTION.

L'extraction des pigments des carpophores entiers de *cinnabarinus* et des bases du pied de *bulliardi* est effectuée par l'alcool bouillant, sur du matériel frais, pour les raisons indiquées dans le paragraphe consacré aux *Dermocybe*. Nous avons également eu recours au chloroforme qui extrait sélectivement le pigment I.

1.2. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE.

Nous avons utilisé principalement le solvant de chromatographie choisi pour les *Dermocybe* : alcool isoamylique - pyridine - eau (30 - 20 - 15). Nous avons employé aussi le mélange butanol - acide acétique - eau (25 - 6 - 25) comme deuxième solvant pour la comparaison des espèces et accessoirement le solvant I de SHIBATA.

1.3. LISTE DES PIGMENTS.

Les pigments ainsi séparés et leurs caractéristiques sont présentés dans le tableau V.

(1) K = KLINCKSIECK et VALETTE. Code des couleurs, Paris, Paul Klincksieck, éditeur.

	Rf	Aspect et réactions colorées			
		visible	U. V.	ammoniaque	acétate de magnésium
I	0,85	jaune	jaune-citrin	rose	jaune-orangé
II	0,60	jaune	orangé-terne	rose	jaune-orangé
III	0,40	rose	jaune-orangé	mauve	mauve
IV	0,16	rose vif	orangé très lumineux	mauve	pourpre

TABLEAU V
SOUS-GENRE *HYDROCYBE*. LISTE DES PIGMENTS
(chromatographie dans alcool isoamylique-pyridine-eau)

1.4. NATURE DES PIGMENTS.

L'analyse chromatographique permet de conclure à la nature anthraquinonique des pigments. Elle indique aussi (pigment I mis à part) que ces anthraquinones ont un caractère nettement hydrophile rappelant les anthraquinones des *Dermocybe*. Cependant aucun des quatre pigments séparés ne correspond à l'un des pigments des *Dermocybe*.

Le pigment I qui a dans le solvant alcool isoamylique - pyridine - eau le même Rf que l'émodyne, ne peut être identifié à celle-ci, car dans le solvant I de SHIBATA il migre beaucoup moins. De plus il n'est pas soluble dans les carbonates, ce qui implique que tous les hydroxyles sont en position α .

De même le pigment III ne peut être identifié au rose 5 des *Dermocybe*, comme le montrent les chromatographies comparatives, et s'il réagit pareillement au nitrate de zirconium, sa teinte en fluorescence est par contre très différente.

Pour les mêmes raisons, le pigment IV ne peut être assimilé au rose 8 des *Dermocybe*.

2. DISTRIBUTION DES PIGMENTS SELON LES ESPECES.

	<i>cinnabarinus</i>	<i>bulliardi</i>
I	**	**
II	***	*
III	***	**
IV	****	****

TABLEAU VI
DISTRIBUTION DES PIGMENTS

Microtopographie de la pigmentation

Les pigments rouges sont vacuolaires chez *bulliardi* et *cinnabarinus*, en particulier un pigment rouge vacuolaire est observable dans le chapeau et la trame des lames chez *cinnabarinus*. En ce qui concerne les pigments jaunes, R. KÜHNER a remarqué dans plusieurs hyphes profondes de la paroi du stipe, une ou parfois deux, ou davantage, masses sphériques dorées à contours flous ou un peu en oursin. Nous identifions ces masses au pigment I qui se singularise par son caractère lipophile (solubilité dans le chloroforme).

Intérêt taxinomique de l'étude des pigments

D'après nos observations, *C. cinnabarinus* n'a aucun des pigments caractéristiques des *Sanguinei*, ni même des *Dermocybe* ; par contre la ressemblance des pigments de cette espèce avec ceux de *bulliardi* est frappante et nous permettrait, semble-t-il, de placer *cinnabarinus* près de *bulliardi* et de le considérer comme un *Hydrocybe* de la section *Miniatopodes* chez lequel la pigmentation rouge, au lieu d'être localisée à la base du carpophore, envahirait le carpophore entier. Il est intéressant de constater qu'un caractère morphologique important dans la classification des Cortinaires (caractère hygrophane) vient appuyer ce rapprochement.

Remarquons cependant que si aucun des pigments des *Dermocybe* ne se trouve chez *bulliardi* et *cinnabarinus*, il s'agit pour toutes ces espèces de pigments de la même famille chimique (pigments anthraquinoniques) vraisemblablement proches par certains caractères structuraux, comme par exemple la présence d'un substituant —COOH.

SOUS-GENRE PHLEGMACIUM FRIES

Introduction botanique

Nous avons étudié quatre espèces à bulbe marginé (section *Scauri*) : *C. elegantior* sensu Moser, *C. orichalceus* Batsch ex Fr. sensu Moser, *C. odorifer* Britz., *C. atrovirens* Kalchbr., et deux espèces sans bulbe marginé (section *Cliduchi*) : *C. percomis* Fr. et *C. nanceiensis* R. Maire.

Nous précisons que notre *atrovirens* est l'espèce dont la chair devient olivacée à la soude, se distinguant ainsi nettement de *prasinus* dont la chair rougit à ce réactif. Quant à *C. orichalceus*, il est pris au sens de MOSER et de R. KÜHNER. Il est conforme à la description donnée par ce dernier (R. KÜHNER, 1960).

Partie expérimentale

1. ETUDE DES PIGMENTS.

1.1. EXTRACTION.

Nous avons utilisé, comme pour les autres sous-genres, l'alcool bouillant. Certains des pigments de *odorifer*, *orichalceus*, *nanceiensis* et *percomis*, s'altèrent plus ou moins dans l'alcool bouillant ou l'alcool froid ; notamment il apparaît un précipité pourpre qui ne se dissout que très difficilement (dans le dioxanne pour *odorifer* et *orichalceus*, dans le chloroforme pour *nanceiensis* et *percomis*). C'est pourquoi nous avons procédé également à des extractions chloroformiques qui donnent des solutions jaunes, stables.

1.2. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE ET NATURE DES PIGMENTS.

1.2.1. Extraits alcooliques.

Pour toutes les espèces, l'analyse chromatographique dans le solvant alcool isoamylique - pyridine - eau révèle des taches plus ou moins violacées à jaune-brunâtre, provenant de l'altération de pigments initialement jaunes, leur Rf, variable, est généralement compris entre 0,9 et 1.

De plus, pour *elegantior* et *odorifer*, plusieurs pigments, présentant les réactions des hydroxyanthraquinones, sont séparés. Pour *elegantior* deux pigments jaunes (Rf 0,35 et 0,25) et un pigment orangé (Rf 0,02) qui est localisé uniquement dans le bulbe du pied, pour *odorifer* un pigment jaune (Rf 0,22). Ce dernier pigment rappelle, par sa couleur, sa fluorescence et sa réaction à l'acétate de magnésium, le pigment 6 des *Dermocybe*, il en diffère

légèrement par le Rf. Quant au pigment jaune de Rf 0,35 de *elegantior*, il s'identifie parfaitement, par chromatographie comparative, au pigment 6 caractéristique des *Dermocybe*.

1.2.2. Extraits chloroformiques.

1.2.2.1. Caractérisation d'anfranols.

Action de divers réactifs :

Extraits chloroformiques	Soude	Acide sulfurique	Réactif de Mecke
<i>elegantior</i>	jaune	rouge	anneau vert sombre puis brunâtre
<i>odorifer</i>	jaune à jaune-orangé	rouge	anneau vert sombre puis noir
<i>atrovirens</i>	jaune d'or	rouge	puis vert sombre puis brunâtre
<i>nanceiensis</i>	jaune	rouge à marron-rouge	anneau vert puis vert- brunâtre
<i>percomis</i>	jaune	rouge à marron-rouge	anneau vert puis vert- brunâtre

TABLEAU VII

SOUS-GENRE *PHILEGMACIUM*. CARACTERISATION D'ANTHRANOLS

Oxydation en anthraquinones.

Pour les cinq espèces précédentes, l'extrait chloroformique est agité avec une solution de soude normale. La solution alcaline se colore en jaune. Nous ajoutons alors de l'eau oxygénée à 3 % environ. Les solutions sont mises quelques minutes au bain-marie bouillant. Leur teinte devient rouge-pourpre à rouge-violet et après acidification, les pigments passent dans l'éther et sont repris dans l'éthanol à 95°. Ils donnent avec l'acétate de magnésium et avec la soude les virages caractéristiques des anthraquinones (notamment pourpre à violet avec l'acétate de magnésium).

1.2.2.2. Analyse chromatographique.

Dans le solvant 30 - 20 - 15 (alcool isoamylique - pyridine - eau), de même que dans le classique solvant de PARTRIDGE (butanol -

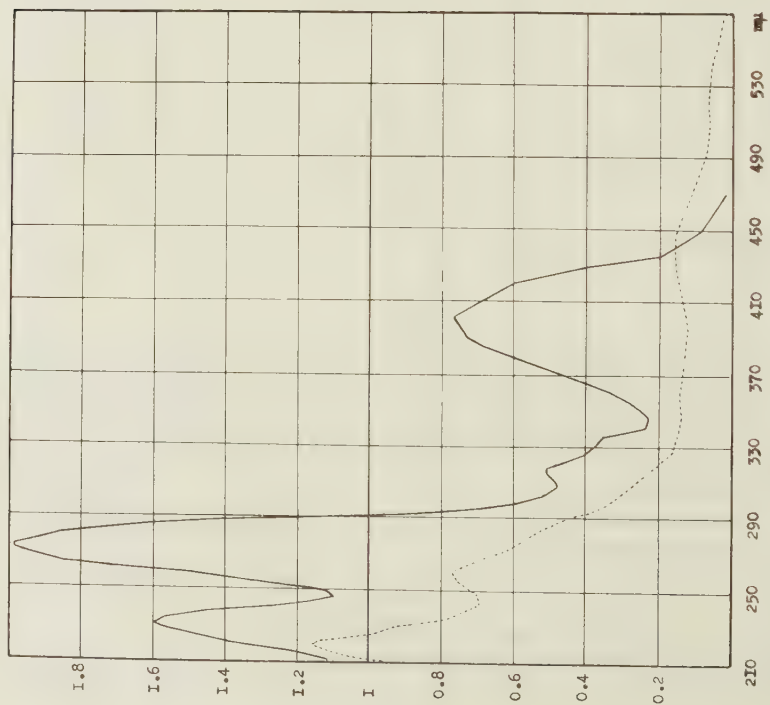


Fig. 8. — Courbe d'absorption de l'anthranol de *C. percomis* (éthanol 95%), pointillés : après oxydation en anthraquinone.

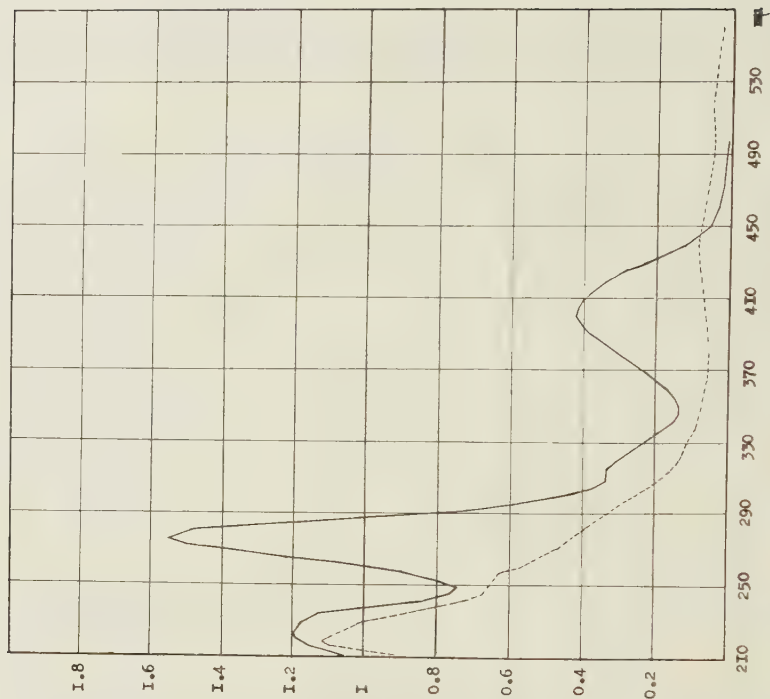


Fig. 9. — Courbe d'absorption de l'anthranol de *C. nanceiensis* (éthanol 95%), pointillés : après oxydation en anthraquinone.

acide acétique - eau (40 - 10 - 50) les anthranols montent au front du solvant. Pour la comparaison des différentes espèces, nous avons utilisé le mélange acide acétique - eau (30 %) où les extraits se scindent souvent en deux fractions, l'une brunâtre de Rf 0, l'autre jaune à jaune brun de Rf variant de 0,7 (*percomis* - *nanceiensis*) à 0,6 (*atrovirens* - *elegantior* - *odorifer* - *orichalceus*). Notons que les pigments jaunes (Rf 0,7) de *percomis* et *nanceiensis* présentent une fluorescence jaune à jaune-vert en lumière de Wood.

Signalons l'instabilité particulière des anthranols de *odorifer* et *orichalceus* qui s'oxydent en cours de chromatographie. Les autres ne s'altèrent qu'après une ou deux semaines.

1.2.2.3. Spectrophotométrie.

Les courbes d'absorption de l'anthranol de *percomis* et de l'anthranol de *nanceiensis* (pigments purifiés par chromatographie) sont très semblables (fig. 8 et 9) :

percomis λ M éthanol : 230 - 272 - 315 - 400 m μ ,

nanceiensis λ M éthanol : 222 - 275 $\sim$ 315 - 400 m μ .

Microtopographie de la pigmentation

En nous reportant à des observations faites par R. KÜHNER sur la pigmentation des *Phlegmacium* (R. KÜHNER, 1960 et notes inédites pour *percomis*, *nanceiensis*, *atrovirens* et *odorifer*), nous constatons que les *Phlegmacium* possèdent un pigment jaune à jaune-vert extra ou épicellulaire dans la chair ou la trame des lames :

C. atrovirens : énormes masses réfringentes d'un très beau jaune-vert dans la chair du pied, plus petites dans la chair piléique, oléifères de la même couleur ; petites gouttes ou plaques jaunâtres difficilement localisables dans la trame des lames.

C. odorifer : chair piléique et trame des lames à granulations jaunes, très fines, extra-épicellulaires ; vieilles basides à contenu jaune vif.

C. orichalceus : dans la trame des lames, très fins granules intercellulaires ou sablant la surface des hyphes.

C. percomis : granulations pigmentaires jaune vif inter et épiceellulaires dans la trame des lames, la chair piléique et au dos des lames.

C. nanceiensis : dans le stipe, pigment citrin doré formant des masses irrégulières entre les hyphes ou incrustant la membrane. Pigment visible également dans la chair piléique et la trame des lames.

C. elegantior : masses jaune brunâtre de grande taille mais très dispersées. Petites masses jaunes extra-épicaulaires souvent réduites apparaissent avec l'âge dans le médiostate.

Nous avons noté personnellement pour *odorifer* des granules jaunes et des basides à contenu jaune apparaissant au microscope à fluorescence avec une teinte jaune-orangé ; pour *percomis*, les granules jaune vif ont une fluorescence orangée ainsi que les très minuscules granules dont certaines basides sont bourrées ; pour *nanceiensis*, des bandes et de très fins granules incrustant la membrane montrent également une fluorescence jaune-orangé.

Il y a tout lieu de croire que la fluorescence que présente la chair de ces espèces en « lumière de Wood » est due, tout au moins en partie, à ces granules jaunes extra-cellulaires observés par R. KÜHNER. Ces granules sont identifiables aux anthranols, pigments lipophiles, caractérisés par l'analyse chimique.

Il serait intéressant de rechercher la présence éventuelle chez *elegantior* ou *odorifer*, d'un pigment vacuolaire correspondant aux pigments anthraquinoniques décelés chez ces espèces.

Intérêt taxinomique de l'étude des pigments

Les pigments majeurs des espèces étudiées sont des anthranols. Ils sont localisés, comme l'anthranol des *Cinnamomei*, au niveau des masses jaunes intercellulaires ou des granules ou gouttelettes.

C. percomis et *nanceiensis* ont probablement le même anthranol. On retrouve chez *elegantior* et *odorifer* le pigment anthraquinonique 6 (ou un pigment très voisin) commun à tous les *Dermocybe*.

SOUS-GENRE CORTINARIUS (= INOLOMA Fr.)

SECTION OLIVACEOAUURATI LANGE

(= *Olivascentes* KÜHNER et ROMAGNESI)

Introduction botanique

Cette section était placée dans les *Dermocybe* par FRIES, qui la distinguait de nos *Sanguinei* et *Cinnamomei* par les couleurs olivâtres de ses espèces. Cette distinction manque de netteté, car il existe des *Cinnamomei* olivâtres. Des différences beaucoup plus profondes permettent de délimiter cette section : les spores sont subglobuleuses, le revêtement piléique est constitué par des hyphes bien plus larges, à cela s'ajoutent des caractères d'ordre chimique. La chair de ces espèces présente une réaction caractéristique, elle se colore en jaune vif par le nitrate d'argent (cette réaction a été découverte par R. HENRY (1937) chez *cotoneus* et retrouvée chez *melanotus* et *venetus* par R. KÜHNER (1960). Nous avons constaté que toutes ces espèces montrent en lumière de Wood une belle fluorescence jaune éclatante du pied, des lames et de la chair (M. GABRIEL, 1962). SINGER (1962) a d'ailleurs noté, après des observations microscopiques, la présence caractéristique d'un pigment fluorescent : « pigment pale yellow, in outer layers covered by an olive green pigment which appeared extremely brightly and brilliantly chrome yellow to emerald green under the fluorescence microscope ».

Les *Olivaceoaurati* ont été transférées par SINGER dans le sous-genre *Inoloma* qui, pour des raisons de règles de nomenclature, est appelé aujourd'hui *Cortinarius*.

Espèces étudiées :

C. cotoneus Fr. sensu Quelet, *C. venetus* Fries et *C. melanotus* Kalchbr.

Ces espèces sont prises au sens de R. KÜHNER (1960).

Partie expérimentale

1. ETUDE DES PIGMENTS.

1.1. EXTRACTION.

Nous avons procédé à des extractions à l'éthanol bouillant. Les extraits, de couleur jaune à jaune brunâtre, présentent la fluorescence vive des carpophores.

1.2. ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE

Elle nous a révélé l'existence d'assez nombreux pigments, trois d'entre eux, présents simultanément et en quantité importante dans chacune des espèces étudiées, sont désignés par A, B, C, les autres par α , β , γ et δ .

En majorité, ces pigments ne migrent pas dans le solvant utilisé pour la chromatographie des anthraquinones des *Dermocybe* (alcool isoamylique - pyridine - eau) ; cependant, dans le cas de *cotoneus*, ce solvant met bien en évidence deux d'entre eux, γ et δ , pigments jaunes de Rf 0,2 et 0,3, le pigment δ étant le plus abondant.

Une bonne séparation est possible avec des solvants très aqueux, acides ou alcalins, en particulier : eau - acide acétique (85 - 15) et citrate de sodium à 4 % saturé d'alcool isoamylique. Ce dernier présente l'avantage, grâce à son pH alcalin, d'aviver la teinte des taches. Nous utilisons le solvant eau - acide acétique (85 - 15) lorsque les éluions sont nécessaires.

Pour chacun des extraits, les trois pigments A, B, C sont ainsi séparés, de plus nous retrouvons dans les extraits de carpophores entiers de *cotoneus* et *melanotus* les pigments γ et δ décelés précédemment, du fait du pH de ce solvant leur teinte est rouge pâle. Nous notons dans les extraits de lames de *venetus* et *melanotus* un troisième pigment, β , de même teinte, enfin un pigment brun clair α pour les carpophores de *melanotus* seulement.

1.3. LISTE DES PIGMENTS.

La liste des pigments ainsi séparés dans le solvant citrate et leur aspect avant et après action de divers réactifs sont rapportés dans le tableau VIII. Signalons que le pigment B devient jaune intense au nitrate d'argent.

1.4. STRUCTURE DES PIGMENTS.

1.4.1. Pigments anthraquinoniques.

Le pigment δ s'identifie, par son Rf (chromatographie comparative), sa couleur en visible, en U.V. et après action de l'acétate de magnésium et des vapeurs d'ammoniaque, au pigment jaune 6 des *Dermocybe*. La spectrophotométrie est en accord avec cette conclusion, les courbes d'absorption en U.V. et visible sont identiques (fig. 10, p. 59).

Les autres pigments β et γ , beaucoup moins abondants, sont aussi très probablement anthraquinoniques.

	Rf	Aspect et réactions colorées			
		visible	U. V.	ammoniaque	
				visible	U. V.
α	0	brun clair	crème	brun	crème
β	0,01	rouge pâle	rougeâtre	rouge	rougeâtre
A	0,09	jaune-vert pâle	jaune-vert lumineux	bleu	bleu
γ	0,10	rouge pâle	rougeâtre	rouge	rougeâtre
δ	0,20	rouge pâle	rougeâtre	rouge	rougeâtre
B	0,36	jaune-citrin	jaune très vif	jaune intensifié	bleu
C	0,53	jaune-orangé pâle	verdâtre terne	jaune-orangé	verdâtre

TABLEAU VIII

SECTION *OLIVACEO AURATI*. LISTE DES PIGMENTS
(chromatographie dans le solvant citrate)

1.4.2. *Pigments xanthoniques.*

1.4.2.1. *Isolement et cristallisation.*

L'extrait alcoolique est précipité à l'acétate de plomb neutre. Le précipité est centrifugé, lavé et repris avec H_2SO_4 , 2 N. Le sulfate de plomb est éliminé par une nouvelle centrifugation. La solution acide obtenue est diluée puis extraite plusieurs fois par du butanol normal. La fraction butanolique, abandonnée à l'ambiante, laisse déposer des aiguilles jaunes présentant au microscope à fluorescence une teinte jaune éclatante. Nous constatons, par chromatographie sur papier, que les cristaux sont à base de pigment B, après une deuxième cristallisation ils contiennent toujours des traces du pigment jaune-vert A.

Propriétés des cristaux :

Point de fusion : supérieur à 350 °C.

Solubilité : les cristaux sont facilement solubles dans l'eau, plus difficilement dans l'éthanol, le butanol et sont insolubles dans le benzène, le chloroforme, l'éther.

Action des bases et des acides : dans les acides concentrés H_2SO_4 , HNO_3 et HCl , les cristaux rougissent et se dissolvent plus ou moins en donnant une solution jaune. Dans une lessive alcaline, les cristaux deviennent rouges puis se dissolvent, la solution virant rapidement au jaune-orangé. Une solution aqueuse ou alcoolique de cristaux de couleur jaune pâle vire au jaune foncé en présence de soude.

Spectrophotométrie U.V. et visible : λ_m eau : 230 - 272 - 309 - 366 m μ (fig. 11, p. 59).

1.4.2.2. *Microhydrolyse acide.*

Nous avons effectué plusieurs hydrolyses soit à partir de cristaux, soit à partir d'éluats obtenus après chromatographie. Ces hydrolyses sont faites en tube scellé à 100° pendant 16 heures avec HCl N et 4 heures avec H_2SO_4 3 N ; chaque fois il apparaît un précipité jaune-brun. Ce précipité, isolé et chromatographié dans le solvant citrate, se révèle en grande partie identique au pigment A.

La fraction aqueuse après neutralisation est chromatographiée, pour la recherche des sucres, dans les trois solvants suivants : butanol - acide acétique - eau (40 - 10 - 50), phénol saturé d'eau, et acétate d'éthyle - pyridine - eau (20 - 10 - 20). Nous mettons ainsi en évidence, dans le cas des deux hydrolyses, la présence de glucose. En outre, dans le cas de l'hydrolyse chlorhydrique, il apparaît un composé supplémentaire relativement important, de R_f inférieur à celui du glucose dans le solvant acétate d'éthyle - pyridine - eau, se colorant en brun au phtalate d'aniline, alors qu'après l'hydrolyse sulfurique nous obtenons un composé qui semble s'identifier au xylose par son R_f et sa coloration rose à brun-rouge après action du phtalate d'aniline.

Après une hydrolyse à H_2SO_4 N pendant une heure, 470 mg de cristaux donnent 170 mg d'aglycone, ce qui représente 300 mg de sucres, soit environ 60 % du poids du glucoside (la teneur paraît assez élevée, mais nous signalons que le filtrat était encore coloré). Dans ces conditions d'hydrolyse, la « fraction sucre » ne révèle que du glucose.

Le pigment B existe donc sous forme glycosidique.

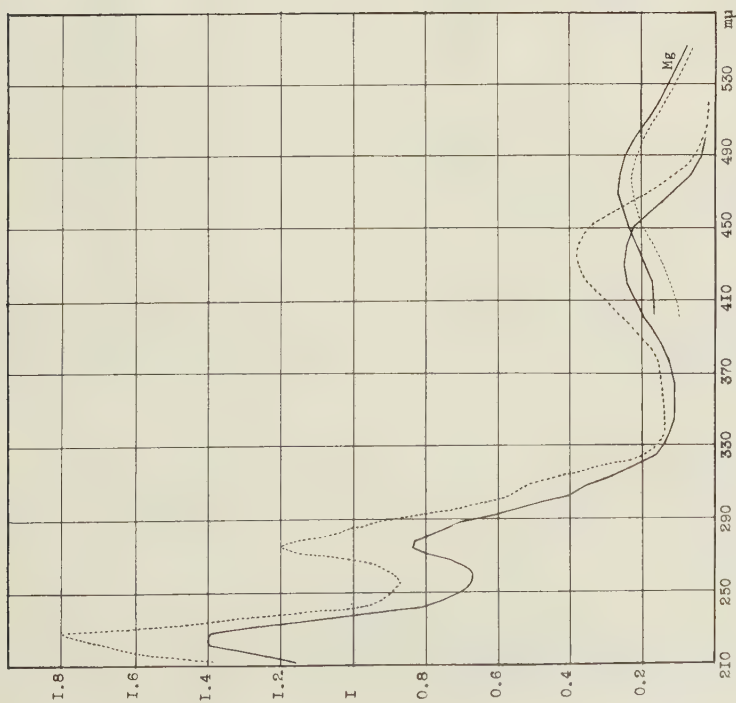


Fig. 10. — Courbes d'absorption du pigment anthraquinone de *C. cotoneus* (trait continu) et de l'anthraquinone 6 des *Dermocybe* (pointillés) dans l'éthanol 95°, Mg : en présence d'acétate de Mg.

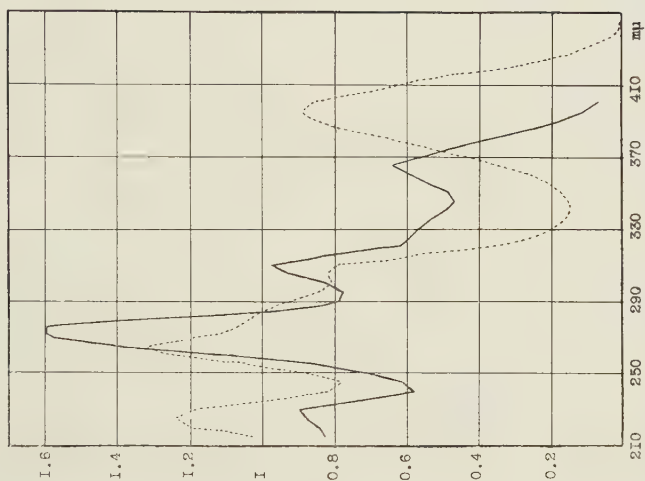


Fig. 11. — Courbe d'absorption du pigment xanthonique B (glycoside) dans l'eau distillée, pointillés : dans la soude à 0,02 N.

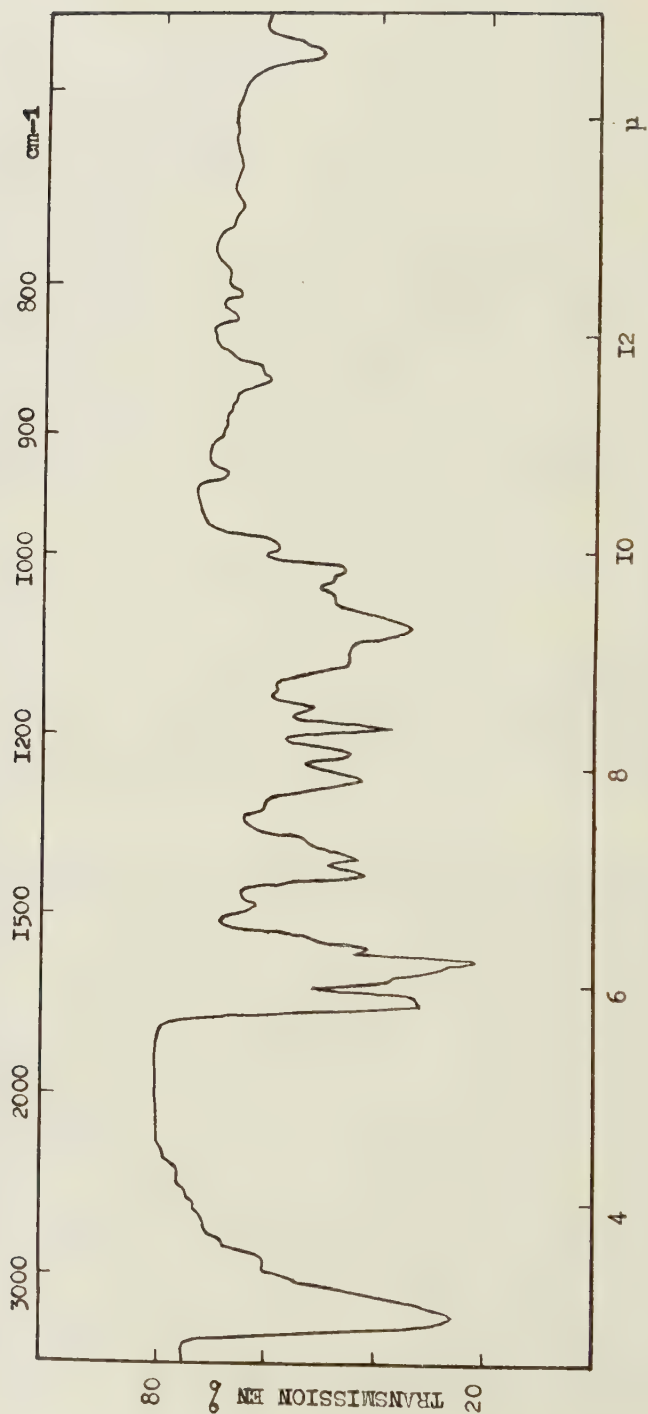


FIG. 12. — Spectre I.R. du pigment xanthonique B (glycoside),
(pastillage dans KBr.).

1.4.2.3. *Caractérisation de l'aglycone.*

Point de fusion :

Comme pour le glycoside, son point de fusion est supérieur à 350 °C.

Solubilité :

Très difficilement soluble dans les solvants organiques, insoluble dans l'eau, le chloroforme, l'éther, légèrement soluble dans l'éthanol, le meilleur solvant est l'alcool méthylique.

Spectrophotométrie U.V. et visible :

Le spectre U.V. se révèle très intéressant, la courbe d'absorption est typiquement celle d'un composé xanthonique.

λ M éthanol : 230 - 272 - 307 - 366 m μ .

Nous n'avons constaté aucun déplacement bathochrome du maximum 366 m μ après action du chlorure d'aluminium ; ce qui implique qu'il n'y a pas de OH en 1 ou 8 (la chélation de Al³⁺ se faisant avec cet hydroxyle).

Spectrophotométrie I.R. (1) :

Le spectre I.R. peut s'accorder avec l'hypothèse d'un composé xanthonique. Nous relevons deux bandes relatives à des carbonyles : —C = O libre : 1718 cm⁻¹, —C = O conjugué avec un phényle : 1684 cm⁻¹ ;

des bandes phényles : 1634, 1490 cm⁻¹ ;

des bandes phénoliques : 3030, 1385, 1193 cm⁻¹.

Signalons que nous avons obtenu avec le pigment B la bande 1074 cm⁻¹ assez caractéristique des glycosides (fig. 12).

Fusion alcaline :

La fusion alcaline, d'après la méthode de A. MAURICE et C. MENTZER (1954), donne deux composés phénoliques que nous n'avons pas pu identifier mais qui ne sont ni la phloroglucine, ni l'orcine, phénols mis en évidence au cours de la fusion alcaline de certaines xanthones.

En résumé, nous avons donc isolé une xanthone qui ne semble pas connue car toutes celles signalées dans la littérature possèdent un —OH en 1 ou 8.

2. *DISTRIBUTION DES PIGMENTS, SELON LES ESPECES.*

(Voir le tableau IX.)

(1) Nous avons utilisé l'appareil de PERKIN-ELMER 21.

	<i>venetus</i>	<i>melanotus</i>	<i>cotoneus</i>
α		**	
β	*	*	
A	**	**	**
γ			*
δ		*	**
B	****	****	****
C	**	**	**

TABLEAU IX

SECTION *OLIVACEO-AURATI*. DISTRIBUTION DES PIGMENTS

Microtopographie de la pigmentation

L'étude chimique ayant montré que la majorité des pigments séparés ont un caractère nettement hydrophile (glycoside - anthraquinone 6), il est prévisible que la pigmentation des *Olivaceoaurati* doit être essentiellement vacuolaire. C'est ce que confirment les observations faites par R. KÜHNER qui a noté particulièrement les colorations vacuolaires au niveau des surfaces des carpophores (R. KÜHNER, 1960). Ainsi chez *venetus*, les hyphes du voile universel renferment des vacuoles vivement colorées en citrin ou jaune-olive, qui virent au rouge cuivré par l'ammoniaque, elles contiennent vraisemblablement un pigment anthraquinonique. Chez *melanotus*, les hyphes du revêtement piléique, à la base des hyphes du voile universel, ont leurs vacuoles jaunes, quant à la couleur brun-bistre caractéristique du voile universel de cette espèce, elle est vacuolaire et correspond au pigment α , brun clair, décelé uniquement chez ce champignon. Chez *cotoneus*, les colorations observées sont moins intenses et les vacuoles des hyphes de la surface du chapeau sont ici jaune clair à olivacé très pâle. Nous avons nous-mêmes observé dans des coupes de chapeau de *venetus*, des vacuoles très fluorescentes, fluorescence due vraisemblablement au glycoside.

R. KÜHNER n'a pas observé dans la trame des lames des *Olivaceoaurati* de grosses masses jaune vif comparables à celles des *Cinnamomei*, une seule fois cependant, il a vu, au voisinage de l'arête des lames de *venetus*, des masses faiblement olivacées, peu volumineuses, qui pourraient correspondre à l'aglycone (pigment A). Quant aux vieilles basides, elles lui sont apparues bourrées de pigment jaune clair ou légèrement brun. Nous avons observé, pour cette même espèce, que des basides ont une fluorescence jaune très vive.

Intérêt taxinomique de l'étude des pigments

Les trois espèces étudiées, représentant la majorité des espèces de cette section, possèdent une grande analogie pigmentaire. Il est intéressant de constater chez ces espèces la présence de pigments anthraquinoniques et notamment de trouver chez l'une d'elles, de façon abondante, une anthraquinone identifiable au pigment jaune 6 des *Dermocybe*.

Mais les *Olivaceoaurati* s'individualisent par un pigment de nature xanthonique, le pigment B, auquel nous attribuons la réaction jaune au nitrate d'argent de la chair des trois espèces étudiées. Rappelons que les hydroxyxanthones n'étaient connues jusqu'ici que chez quelques champignons inférieurs. Soulignons, d'autre part, que ce pigment B se présente sous forme glycosidique. A notre connaissance, on n'a pas signalé de façon certaine l'existence de pigments glycosidiques tant chez les champignons inférieurs que supérieurs (1).

Remarquons que les deux groupes structuraux xanthones et anthraquinones ne sont pas aussi éloignés qu'on pourrait le penser. GATENBECK (1960), étudiant la biogénèse des anthraquinones chez les champignons imparfaits, cite les xanthones comme étant soit des produits intermédiaires, soit des produits d'oxydation.

(1) KÖGL pense que la muscarufine d'*Amanita muscaria* est sous forme glycosidique (KÖGL et ERXLEBEN, 1930).

CONCLUSION

Au cours des six années de recherches sur les pigments des Bolets et des Cortinaires, nous avons récolté et étudié la presque totalité des Bolétacées, Gomphidiacées et Paxillacées de la flore française (41 espèces) et un certain nombre de Cortinaires (21 espèces) répartis dans quatre sous-genres différents : *Dermocybe* (dont nous nous sommes procuré la plupart des espèces), *Hydrocybe*, *Phlegmacium* et *Cortinarius* sensu stricto (= *Inoloma*).

Une partie de notre exposé concerne le dénombrement et la caractérisation chimique des pigments, l'autre, l'intérêt systématique que présentent ces pigments.

*
**

Pour les Bolets et espèces affines, l'analyse chromatographique d'extraits bruts nous a permis de bien séparer et de caractériser le bolétole, pigment anthraquinonique connu, et de mettre en évidence chez quelques Bolets et chez tous les Gomphides un pigment chimiquement voisin, réagissant pareillement aux phénoloxydases, que nous avons appelé pseudo-bolétole.

Nous avons également mis en évidence d'autres pigments parfois quantitativement importants, dont certains sont de nature anthraquinonique.

Au point de vue taxinomique, présence ou absence de bolétole corroborent les coupures des systématiciens : ainsi tous les *Boletus* Dill. ex Fr. sensu stricto (= *Tubiporus* Karst.) possèdent du bolétole alors qu'aucun *Leccinum* S.F. Gray (= *Krombholzia* Karst.) n'en contient. De même tous les *Xerocomus* Quel. ont du bolétole ainsi que l'espèce lamellée *Phylloporus rhodoxantus* Schw. rangée par les systématiciens à côté des *Xerocomus*.

Nous avons signalé que *X. parasiticus* contient beaucoup plus de pseudo-bolétole que de bolétole.

L'existence du pseudo-bolétole chez toutes les espèces de *Gomphidius* affirme l'affinité de ce genre avec les Bolets.

*
**

Chez les Cortinaires, des anthraquinones et des anthranols ont été décelés dans tous les sous-genres étudiés. Dans le seul sous-genre *Dermocybe*, nous avons dénombré 14 anthraquinones et 1 anthranol. Dans le sous-genre *Phlegmacium*, ce sont au contraire les anthranols qui sont les pigments majeurs.

A part l'émodine et la dermocybine, nous n'avons pu identifier aucun de ces pigments à des anthraquinones connues. Nous les

avons caractérisés par chromatographie, spectrophotométrie et par diverses réactions chimiques, et nous avons abordé le problème de leur structure.

Nous avons de plus isolé, dans la section *Olivaceoaurati* du sous-genre *Cortinarius* sensu stricto, un pigment xanthonique ; ce type de pigment n'a encore jamais été signalé chez les champignons supérieurs. Nous avons montré qu'il existait sous forme glucosidique.

Le problème de la répartition de ces pigments dans les différentes parties du carpophore a été envisagé de même que celui de leur localisation microscopique. Ce dernier point a été exposé dans le paragraphe « microtopographie » à propos de l'étude de chaque sous-genre. Nous avons notamment attribué à un anthranol les masses pigmentaires caractéristiques observées microscopiquement chez tout un groupe de *Dermocybe*.

D'une façon générale, les résultats de nos recherches s'accordent avec les coupures des systématiciens. Nous avons fait remarquer cependant que *C. (Dermocybe) cinnabarinus* est beaucoup plus proche par ses pigments de *C. (Hydrocybe) bulliardi* que des autres *Dermocybe*.

Nos résultats confirment par ailleurs l'homogénéité du genre *Cortinarius*. En effet, des pigments identiques ou analogues se retrouvent dans des espèces ayant en commun la coloration jaune de la chair, du pied ou des lames, mais fort différentes, puisqu'elles ont été classées dans divers sous-genres : signalons le pigment anthraquinonique « 6 » des *Dermocybe*, *Cortinarius* (= *Inoloma*) et *Phlegmacium*, et les anthranols rencontrés dans les *Dermocybe Cinnamomei* et dans des *Phlegmacium* variés, même de la section des *Scauri*.

Certains mycologues, tel MOSER en 1951, tendent à rapprocher les *Dermocybe* sensu stricto, c'est-à-dire le groupe centré sur les *Cinnamomei* et quelques espèces voisines, du genre *Gymnopilus* Karst. (*Fulvidula* Romagnesi). MOSER note que les espèces de ce sous-genre, par leur couleur, leur réaction aux bases et leurs spores sont beaucoup plus proches du genre *Gymnopilus* Karst. que ne le sont les *Phlegmacium* par exemple et la majeure partie des autres *Cortinaires*. Ayant étudié deux *Gymnopilus*, *G. hybridus* et *G. spectabilis*, nous en avons extrait plusieurs pigments et nous pouvons affirmer qu'il ne s'agit ni d'anthraquinones ni d'anthranols. Ce rapprochement n'est donc pas confirmé par les données chimiques.

*
**

En conclusion, l'étude des pigments que nous avons tentée chez certaines Agaricales nous a permis de mieux préciser les affinités entre familles, genres, sous-genres ou espèces. Elle a d'autre part révélé l'existence de nombreux pigments particuliers dont l'étude structurale enrichirait notablement la connaissance des anthraquinones et des xanthones naturelles.

BIBLIOGRAPHIE

- ASAHINA Y. et SHIBATA S., 1954. — Chemistry of lichen substances. Society for the Promotion of Science. Japan, 240 p.
- AWE W. et KÜMMEL H.-J., 1960. — Aloin, einige Betrachtungen zu seiner Konstitution. *Arch. Pharm. Dtsch.*, 293, 271-277.
- BATAILLE F., 1948. — Les réactions macrochimiques chez les champignons. Paul Lechevalier, éditeur, Paris, 172 p.
- BENESOVA V., HÉROUT V. et SORM V., 1954. — Plant substances.. III. Substances from *Lactarius deliciosus*. *Chem. Listy*, 48, 882-885.
- BENESOVA V., HÉROUT V. et SORM V., 1955. — The nature of azulogenic compounds from *Lactarius deliciosus*. Preliminary communication. *Chem. Listy*, 49, 779-780, et *Coll. Czechosl. Chem. Comms.*, 20, 510-511.
- BERTRAND G., 1901. — Sur le bleuissement de certains champignons. *C.R. Acad. Sc. Fr.*, 133, 1233-1256.
- BERTRAND G., 1902. — Sur l'extraction du bolétole. *C.R. Acad. Sc. Fr.*, 134, 124-126.
- BIRKINSHAW J.-H., 1955. — Ultra-violet absorption spectra of some polyhydroxyanthraquinones. *Biochem. J. G.B.*, 59, 485-486.
- BIRKINSHAW J.-H. et GOURLAY R.-H., 1961. — The structure of dermocybine. *Biochem. J. G.B.*, 79, 3 P. - 4 P.
- BONNET J.-L., 1959. — Application de la chromatographie sur papier à l'étude de divers champignons (Basidiomycètes - Hyménomycètes). *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 75, 218-327.
- BRIGGS H., NICHOLLS G.-A. et PATERSON R., 1952. — Chemistry of the *Coprosma* Genus. Part. VI. Minor Anthraquinone Colouring Matters from *Coprosma australis*. *J. Chem. Soc.*, 1952, 1718-1722.
- FEIGL F., 1960. — Spots tests in organic Analysis. Elsevier publishing company, Amsterdam, London, 675 p.
- FRANK B. et RESCHKE T., 1960. — Isolierung der Hydroxy-anthrachinon-carbonsäuren. Endocrocin und Clavorubin aus Roggenmutterkorn. *Chem. Ber. Dtsch.*, 93, 347-356.
- FRIES E., 1874. — Hymenomycetes Europaei. Upsala, 754 p.
- GABRIEL M. (Mme), 1958. — Recherches sur les pigments des Agaricales. I. Comparaison des pigments de *Gymnopilus spectabilis* (Fr.) et *hybridus* (Fr.). *Ann. Univ. Lyon*, 10, 65-78.
- GABRIEL M. (Mme), 1960 a. — Recherches sur les pigments des Agaricales. III. Pigments des Cortinaires des groupes *Cinnamomei* et *Sanguinei*. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 76, 208-315.

- GABRIEL M. (Mme), 1960 b. — Recherches sur les pigments des Agaricales. IV. Deuxième contribution à la connaissance de la pigmentation des Cortinaires des groupes *Sanguinei* et *Cinnamomei*. *Ann. Univ. Lyon*, 11-12, 67-76.
- GABRIEL M. (Mme), 1961. — Recherches sur les pigments des Agaricales. V. Troisième contribution à l'étude des pigments des groupes *Sanguinei* et *Cinnamomei*. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 77, 262-272.
- GABRIEL M. (Mme), 1962. — Recherches sur les pigments des Agaricales. VI. Pigments des Cortinaires du groupe *Olivascentes*. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 78, 359-366.
- GABRIEL M. (Mme) et LAMOURE D., 1965. — *Cortinarius (Dermocybe) uliginosus* Berk. var. *luteus* n. var. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, sous presse.
- GATENBECK S., 1960. — Studies on the Biosynthesis of anthraquinones in lowest Fungi. *Svensk Kem. Tidsk.*, 72, 188-203.
- GILBERT E.-J., 1931. — Les Bolets. Librairie E. Le François, Paris, 254 p.
- HEGNAUER R., 1962. — Chemotaxonomie der Pflanzen. Band 1. E. Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart, 517 p.
- HEIM R., 1942. — Les pigments des champignons et leurs rapports avec la systématique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 24, 48-79.
- HENRY R., 1937. — Révision de quelques Cortinaires. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 53, 49-80.
- HENRY R., 1939. — Les Cortinaires du groupe *Cinnamomeus*. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, 55, 284-302.
- HENRY R., 1943. — Réactions colorées obtenues sur les champignons supérieurs à l'aide d'un réactif de synthèse. *Rev. Mycol.*, 8, 22-25.
- HOWARD B.-H. et RAISTRICK H., 1955. — Studies in the biochemistry of microorganisms. XCIV. The colouring matter of species on the *Aspergillus nidulans* group. I. Asperticine a cristalline colouring matter of *Aspergillus quadrilineatus* Thom et Raper. *Biochem. J. G.B.*, 59, 475-484.
- KÖGL F., BECKER H., DETZEL A. et DE VOSS G., 1928. — Untersuchungen über Pilzfarbstoffe. VI. Die Konstitution des Atromentins. *Ann. Chem.*, 465, 211-242.
- KÖGL F., BECKER H., DETZEL A. et DE VOSS G., 1928. — Untersuchungen über Pilzfarbstoffe. VII. Die Synthese der Atromentins zur Kenntnis der Atromentinsäure. *Ann. Chem.*, 465, 243-256.
- KÖGL F. et DELJS W.-B., 1935. — Untersuchungen über Pilzfarbstoffe. XI. Über Boletol den Farbstoff der blau anlaufenden Boleten. *Ann. Chem.*, 515, 10-23.
- KÖGL F. et DELJS W.-B., 1935. — Untersuchungen über Pilzfarbstoffe. XII. Die Synthese von Boletol und Isooletol. *Ann. Chem.*, 515, 24-33.
- KÖGL F. et ERXLEBEN H., 1930. — Untersuchungen über Pilzfarbstoffe. VIII. Über den roten Farbstoff des Fliegenpilzes. *Ann. Chem.*, 479, 11-26.

- KÖGL F. et POSTOWSKY J.-J., 1924. — Untersuchungen über Pilzfarbstoffe. I. Über das Atromentin. *Ann. Chem.*, 440, 19-35.
- KÖGL F. et POSTOWSKY J.-J., 1925 a. — Untersuchungen über Pilzfarbstoffe. II. Über die Farbstoffe des blutroten Hautkopfes (*Dermocybe sanguinea* Wulf). *Ann. Chem.*, 444, 1.
- KÖGL F. et POSTOWSKY J.-J., 1925 b. — Untersuchungen über Pilzfarbstoffe. III. Über das Atromentin. *Ann. Chem.*, 445, 159-170.
- KÜHNER R., 1927. — Contribution à l'étude des Hyménomycètes et spécialement des Agaricacées. *Le Botaniste*, 17, 1-215.
- KÜHNER R., 1934. — Observations sur la localisation cytologique des substances colorées chez les Agarics et les Bolets. *Le Botaniste*, 26, 347-369.
- KÜHNER R., 1949. — Remarques sur quelques caractères microscopiques habituellement négligés des Cortinaires et particulièrement sur la localisation de leurs substances colorées. *Bull. Soc. Natur. Oyonnax*, 3, 1-8.
- KÜHNER R., 1955. — Compléments à la « Flore analytique ». IV. Espèces nouvelles ou critiques de *Cortinarius*. *Bull. Soc. Linn. Lyon*, 24, 39-54.
- KÜHNER R., 1960. — Notes descriptives sur les Agarics de France. I. *Cortinarius*. *Bull. Soc. Linn. Lyon*, 29, 40-56, 219-227 et 260-266.
- KÜHNER R. et ROMAGNESI H., 1953. — Flore analytique des Champignons supérieurs. Masson et Cie éditeurs, Paris, 557 p., 677 fig.
- LANGE J.-E., 1935-1940. — Flora Agaricina Danica, Copenhagen, 5 vol., 200 planches.
- LÉGER E., 1936. — Sur le bolétol, matière colorante des bolets bleuissants. *J. Pharm. Chim.*, 24, 508-518.
- MAURICE A. et MENTZER C., 1954. — Nouveaux constituants des extraits de Bois. III. Sur une microméthode d'analyse structurale des dérivés flavoniques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 36, 24-25.
- MORTON R.-A. et EARLAM W.-T., 1941. — Absorption Spectra in Relation to Quinones : 1 - 4 Naphtoquinone, Anthraquinone and their Derivatives. *J. Chem. Soc.*, 1941, 159-169.
- MOSFR M., 1951. — Cortinarien Studien. I. *Phlegmacium*, Sydovia 5, 488-544.
- ORTON F.-D., 1958. — The genus *Cortinarius*. II. *Inolcma* and *Dermocybe*. *The Naturalist* (suppl.), 81-149.
- PASTAC I.-A., 1942. — Les matières colorantes des champignons. *Rev. Mycol.* (mémoire hors série n° 2), 88 p.
- PETERS R.-H. et SUMNER H.-H., 1953. — Spectra of Anthraquinone Derivatives. *J. Chem. Soc.*, 1953, 2101-2110.
- PLATTNER P.-A. et HEILBRONNER E., 1945. — Über die Konstitution des Lactarovioline. *Experientia*, 1, 233.
- PLATTNER P.-A., HEILBRONNER E., SCHMID R.-W., SAUDRIN R. et FÜRST A., 1954. — The structure of lactarovioline. *Chem. and Ind.*, 39, 1202-1203.

- ROBERTS J.-C., 1961. — Naturally Occuring Xanthoncs. *Chem. Rev.*, 61, 592-603.
- SCHMID W., 1955. — In Paech K. et Tracey M.V. « Moderne Methoden der Pflanzenanalyse ». Springer Verlag, Berlin, 3, 761 p.
- SHIBATA S., MURAKAMI T. et TAKIDO M., 1955. — Metabolic Products of Fungi. V. Structure of Skyrin. *Pharm. Bull. Jap.*, 3, 278-283.
- SHIBATA S., MURAKAMI T., KITAGAWA I. et KISHI T., 1956. — Metabolic Products of Fungi. VIII. Rugulosin. The structure of Dianhydro-rugulosin and its Relations to the structure of Iridoskyrin. *Pharm. Bull. Jap.*, 4, 111-116.
- SHIBITA S., TAKIDO M. et TANAKA O., 1950. — Paper Chromatography of Anthraquinone Pigments. *J. Am. Chem.*, 72, 2789-2790.
- SHIBATA S., TAKIDO M. et NAKAJIMA T., 1955. — Metabolic Products of Fungi. VII. Paper Chromatography of the colouring matters of *Penicillium islandicum* Sopp. *Pharm. Bull. Jap.*, 3, 286-290.
- SINGER R., 1962. — The Agaricales in Modern Taxonomy (2 nd. edition) Cramer, Weinheim, 915 p., 73 pl.
- SPRUIT G.-J.-P., 1949. — Absorption Spectra of Quinones. II. Anthraquinones and heterocyclic analogues. *Rec. Trav. Chim.*, 68, 325-335.
- THOMSON R.-H., 1957. — Naturally Occuring Quinones. *Butterworths Scientific Publications*, London, 302 p.
- THÖRNER W., 1879. — Über den im *Agaricus atrotomentosus* vorkommenden chinonartigen Körper. *Ber. Chem. Gesellsch.*, 12, 1630-1635.
- WILLSTAEDT H., 1935. — Über die Farbstoffe des echten Reiskers (*Lactarius deliciosus* L). I. Mitt. *Ber. Chem. Gesellsch.*, 68, 333-340.
- WILLSTAEDT H., 1936. — Über die Farbstoffe des echten Reiskers (*Lactarius deliciosus* L). II. Mitt. *Ber. Chem. Gesellsch.*, 69, 997-1001.
- WILLSTAEDT H., 1946. — Pilzfarbstoffe. V. Lactaroviolin. *Svensk. Kem. Tidsk.*, 58, 23-26.

TABLE DES MATIERES

	Pages
Introduction	9
Historique	11
Mise au point sur la chimie des Anthraquinones et des Xanthonés ..	13
Anthraquinones et anthranols	13
Xanthonés	18
Recherches personnelles sur les Bolets	19
Partie expérimentale	21
Etude des pigments	21
Distribution des pigments	23
Intérêt taxinomique de l'étude des pigments	26
Recherches personnelles sur les Cortinaires	29
Sous-genre <i>Dermocybe</i>	30
Introduction botanique	30
Partie expérimentale	31
Etude des pigments	31
Distribution des pigments	39
Microtopographie de la pigmentation	44
Intérêt taxinomique de l'étude des pigments	45
Sous-genre <i>Hydrocybe</i>	47
Introduction botanique	47
Partie expérimentale	47
Etude des pigments	47
Distribution des pigments	49
Microtopographie de la pigmentation	49
Intérêt taxinomique de l'étude des pigments	49
Sous-genre <i>Phlegmacium</i>	50
Introduction botanique	50
Partie expérimentale	50
Etude des pigments	50
Microtopographie de la pigmentation	53
Intérêt taxinomique de l'étude des pigments	54
Sous-genre <i>Cortinarius</i>	55
Introduction botanique	55
Partie expérimentale	55
Etude des pigments	55
Distribution des pigments	61
Microtopographie de la pigmentation	62
Intérêt taxinomique de l'étude des pigments	63
Conclusion	65
Bibliographie	67

Deuxième thèse

Propositions données par la Faculté
DU ROLE DES FLAVONOIDES EN PHYSIOLOGIE VEGETALE

Vu
Les Membres du Jury
MM. KÜHNER
BOLDIN
LEBRETON

Vu et approuvé
Le Doyen de la Faculté
des Sciences
J. BRACONNIER

Vu et accordé le permis d'imprimer
Lyon, le 21 septembre 1965

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université
P. LOUIS.

imprimerie joanny large
37, QUAI FULCHIRON - LYON-5 - RHONE

Dépôt Légal 4^e Trimestre 1965